

SVEUČILIŠTE UZAGREBU

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Martina Hotujac Grgurević

ČIMBENICI DJELOTVORNOSTI DERMALNOG PRIPRAVKA

Specijalistički rad

Zagreb, 2019.

SVEUČILIŠTE UZAGREBU

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Martina Hotujac Grgurević

ČIMBENICI DJELOTVORNOSTI DERMALNOG PRIPRAVKA

Specijalistički rad

Zagreb, 2019.

POSILIJEDIPLOMSKI SPECIJALISTIČKI STUDIJ RAZVOJ LIJEKOVA

Mentor rada: Izv. prof. dr. sc. Ivan Pepić

Specijalistički rad obranjenjedana 17. svibnja 2019. na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu, pred Povjerenstvom u sastavu:

1. Izv. prof. dr. sc. Jasmina Lovrić

Sveučilište u Zagrebu

Farmaceutsko-biokemijski fakultet

2. Izv. prof. dr. sc. Ivan Pepić

Sveučilište u Zagrebu

Farmaceutsko-biokemijski fakultet

3. Dr.sc. Marjana Dürriegl, znanstv. sur.

PLIVA Hrvatska d.o.o.

Rad ima 66 listova.

PREDGOVOR

Specijalistički rad izrađen je pod vodstvom mentora izv. prof. dr. sc. Ivana Pepića, na Zavodu za farmaceutsku tehnologiju, Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Željela bih zahvaliti izv. prof. dr. sc. Ivanu Pepiću na podršci, strpljenju i stručnom vodstvu tijekom izrade ovog specijalističkog rada.

Zahvaljujem svojoj obitelji na bezuvjetnoj podršci i strpljenju ukazanima tijekom studija.

Martina Hotujac Grgurević

Sažetak

CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog specijalističkog rada je pregledno opisati, detaljno analizirati i kritički raspraviti bitne čimbenike koji utječu na djelotvornost dermalnog pripravka.

MATERIJALI I METODE

Pretraživanje literature online baza podataka obavljeno je elektroničkim putem pomoću umreženog računala koje ima online pristup bazama podataka. Pretražene su bibliografska baza podataka PubMed, baza Elsevier i ScienceDirect. Literatura je pretraživana prema temi istraživanja, predmetu istraživanja, autorima i časopisu. Pretraživanje je provedeno od općih prema specijaliziranim člancima pri čemu su odabrani članci relevantni za problematiku ovoga specijalističkog rada. Pri proučavanju relevantnih članaka izdvojeni su najvažniji rezultati, rasprave i zaključci koji su prikazani ovim specijalističkim radom. Pretraživanjem baza podataka znanstvene literature dat je pregled najnovijih saznanja o čimbenicima koji utječu na djelotvornost dermalnog pripravka te o složenom međudjelovanju djelatne tvari, podloge i kože.

REZULTATI

Većina klasičnih lijekova ne pokazuje zadovoljavajuću permeaciju kroz kožu što je rezultiralo razvojem inovativnih sustava za dostavu djelatne tvari na željeno mjesto djelovanja. Primjerice, razvijaju se mikroemulzije, čvrste lipidne nanočestice i nanostrukturirani lipidni nosači što je omogućilo uklapanje većih doza djelatne tvari i veću stabilnost lijeka. Mogućnosti ovakvih nosača da poboljšaju permeaciju djelatne tvari kroz kožu i da postignu "targetiranje" šireg spektra djelatnih tvari ovisi o sastavu podloge kao i o fizikalno-kemijskim svojstvima djelatne tvari. Utjecaj podloge na absorpciju djelatne tvari je vrlo složen jer ovisi o fizikalno-kemijskim interakcijama između podloge i djelatne tvari te o interakcijama podloge s površinom kože.

Dakako, prethodno svim ovim interakcijama značajan činbenik dostave djelatne tvari u kožu su fizikalno-kemijska svojstva same djelatne tvari a to su: veličina molekule, polarnost i lipofilnost.

ZAKLJUČAK

Funkcionalna barijera rožnatog sloja osnova je zdravlja kože što znači da treba biti održana ravnoteža funkcionalnih lipida, vode i prirodnih čimbenika vlažnosti. Kako bi se to postiglo dermalni pripravak treba sadržavati harmonizirane udjele vode, emolijensa i ovlaživača ovisno o tipu i stanju kože.

S fizičko-kemijskog gledišta, formulacije koje dostavljaju lijek pasivnom difuzijom moraju omogućiti razdjeljenje lijeka između formulacije i kože te između slojeva kože. Na taj način postiže se koncentracijski gradijent kroz slojeve kože koji bi trebao biti konstantan.

Podloga dermalnog pripravka značajno utječe na topljivost i termodinamičku aktivnost djelatne tvari, a što u konačnici određuje raspodjelu djelatne tvari iz podloge u rožnati sloj kože. Dermalni pripravak treba biti oblikovan na način da je koncentracija djelatne tvari u pripravku približno jednaka njezinoj maksimalnoj topljivosti, dok istodobno topljivost djelatne tvari u podlozi treba biti znatno manja u usporedbi s topljivošću djelatne tvari u rožnatom sloju kože. Na topljivost djelatne tvari u podlozi može se utjecati sastavom podloge.

Summary

OBJECTIVES

The aim of this thesis is to describe, analyze and critically discuss essential factors affecting the efficacy of the dermal preparation.

MATERIAL AND METHODS

Search online databases was conducted electronically with a networked computer that has online access to databases PubMed, Elsevier and ScienceDirect. The literature was searched depending on the subject of the investigation, authors and the journals, from general to specialized articles. During investigation, the relevant articles were chosen and studied. The most important results, discussions and conclusions are shown in this thesis.

Researching the database of scientific literature provides an overview of the latest findings on factors affecting the efficacy of the dermal preparation and the complex interaction of the active substance, the base and the skin.

RESULTS

Most classic drugs do not show satisfactory permeation through the skin, resulting in the development of innovative systems for delivering the active substance to the desired site of action. For example, microemulsions, solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers are developed, enabling larger doses of active substance and greater drug stability. The ability of such carriers to improve the permeation of the active substance through the skin and to achieve "targeting" of a broad spectrum of active substances depends on the composition of the base as well as on the physico-chemical properties of the active substance. The influence of the base on the absorption of the active substance is very complex because it depends on the physico-chemical interactions between the base and the active substance and on the

interactions of the base with the skin surface. Of course, prior to all these interactions, a significant factor in the delivery of active substance to the skin is the physico-chemical properties of the active substance itself, namely: molecule size, polarity and lipophilicity.

CONCLUSION

Functional corneal barrier is the basis for skin health, which means that the balance of functional lipids, water and natural moisture factors should be maintained. To achieve this, the dermal formulation should contain harmonized amounts of water, emollients and humectants depending on the type and condition of the skin.

From the physicochemical point of view, the formulations that provide the drug by passive diffusion must allow drug separation between the formulation and the skin and between the layers of the skin. This results in a concentration gradient through the skin layers which should be constant.

The base of the dermal formulation significantly influences the solubility and thermodynamic activity of the active substance, which ultimately determines the distribution of the active substance from the substrate to the corneal layer of the skin. The dermal formulation should be designed in such a way that the concentration of the active substance in the composition is approximately equal to its maximum solubility while at the same time the solubility of the active substance in the substrate should be considerably lower when compared to the solubility of the active substance in the corneal layer of the skin. The solubility of the active substance in the base can be influenced by the composition of the base.

Sadržaj

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA	- 1 -
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	- 5 -
3. MATERIJAL I METODE - SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI	- 6 -
3.1 Značajke kože kao mjesta primjene dermalnog pripravka	- 7 -
3.1.1 Epidermis	- 9 -
3.1.2 Dermis	- 16 -
3.1.3 Hipodermis	- 17 -
3.1.4 Fiziološki čimbenici kože koje utječu na bioraspoloživost djelatne tvari	- 17 -
3.2 Fizičko-kemijske značajke djelatne tvari	- 19 -
3.2.1 Veličina molekule	- 23 -
3.2.2 Ionizacija	- 24 -
3.2.3 Hidrofilnost/lipofilnost djelatne tvari	- 25 -
3.2.4 Koncentracija djelatne tvari	- 26 -
3.2.5 Talište	- 26 -
3.2.6 Mobilnost lijeka	- 26 -
3.2.7 Ostali čimbenici	- 27 -
3.3 Značajke podloge za izradu dermalnih pripravaka	- 27 -
3.3.1 Utjecaj sirovinskog sastava podloge na dermalnu bioraspoloživost djelatne tvari	- 28 -

3.3.2 Utjecaj farmaceutsko-tehnoloških značajki podloge na dermalnu bioraspoloživost djelatne tvari	- 32 -
3.4. Pravilna primjena dermalnog pripravka.....	- 36 -
3.5 Optimizacija dermalne dostave lijeka.....	- 40 -
3.5.1 Termodinamička aktivnost.....	- 41 -
3.5.2 Prezasićenost.....	- 41 -
3.5.3 Kemijski pojačivači apsorpcije	- 42 -
3.5.4 Fizičke metode poboljšavanja dermalne apsorpcije lijeka	- 43 -
3.5.5 Upotreba prolijekova	- 46 -
3.5.6 Biofarmaceutski pristup optimizacije dostave lijeka - nanosustavi za dostavu lijeka u dublje slojeve kože	- 46 -
4. RASPRAVA.....	- 53 -
5. ZAKLJUČAK	- 56 -
6. LITERATURA	- 58 -
7. ŽIVOTOPIS.....	- 64 -

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

Zbog svoje široke primjene dermalni pripravci su u fokusu mnogobrojnih istraživanja. Razvojem novih sustava za dermalnu i transdermalnu primjenu otvaraju se nove mogućnosti korištenja dermalnih pripravaka.

Dermalni pripravci se primjenjuju u svrhu liječenja, zaštite i njege kože. Razlikujemo dvije vrste dermalnih pripravaka s obzirom na ciljano mjesto djelovanja. Topikalni dermalni pripravci su formulirani na način da dostavljaju djelatnu tvar u kožu gdje liječi kožna oboljenja - ciljani organ je sama koža. Transdermalni pripravci su formulirani da dostavljaju djelatnu tvar kroz kožu u opću cirkulaciju za sistemski učinak.

Formulacija djelotvornog dermalnog pripravka vrlo je kompleksan proces koji zahtjeva širok spektar znanja iz područja biomedicinskih znanosti. Kod formulacije dermalnog pripravka treba uzeti u obzir složeno međudjelovanje aktivne tvari, podloge i kože (Slika 1) (Otto i sur., 2009). Formuliranje topikalnog pripravka uključuje optimizaciju dostave djelatne tvari pri čemu treba voditi brigu da su ispunjeni zahtjevi za kemijsku i fizikalnu stabilnost, netoksičnost te estetski izgled pripravka (Otto i sur., 2009).



Slika 1. Shematski prikaz složenog međudjelovanja aktivne tvari, podloge i kože (Otto i sur., 2009).

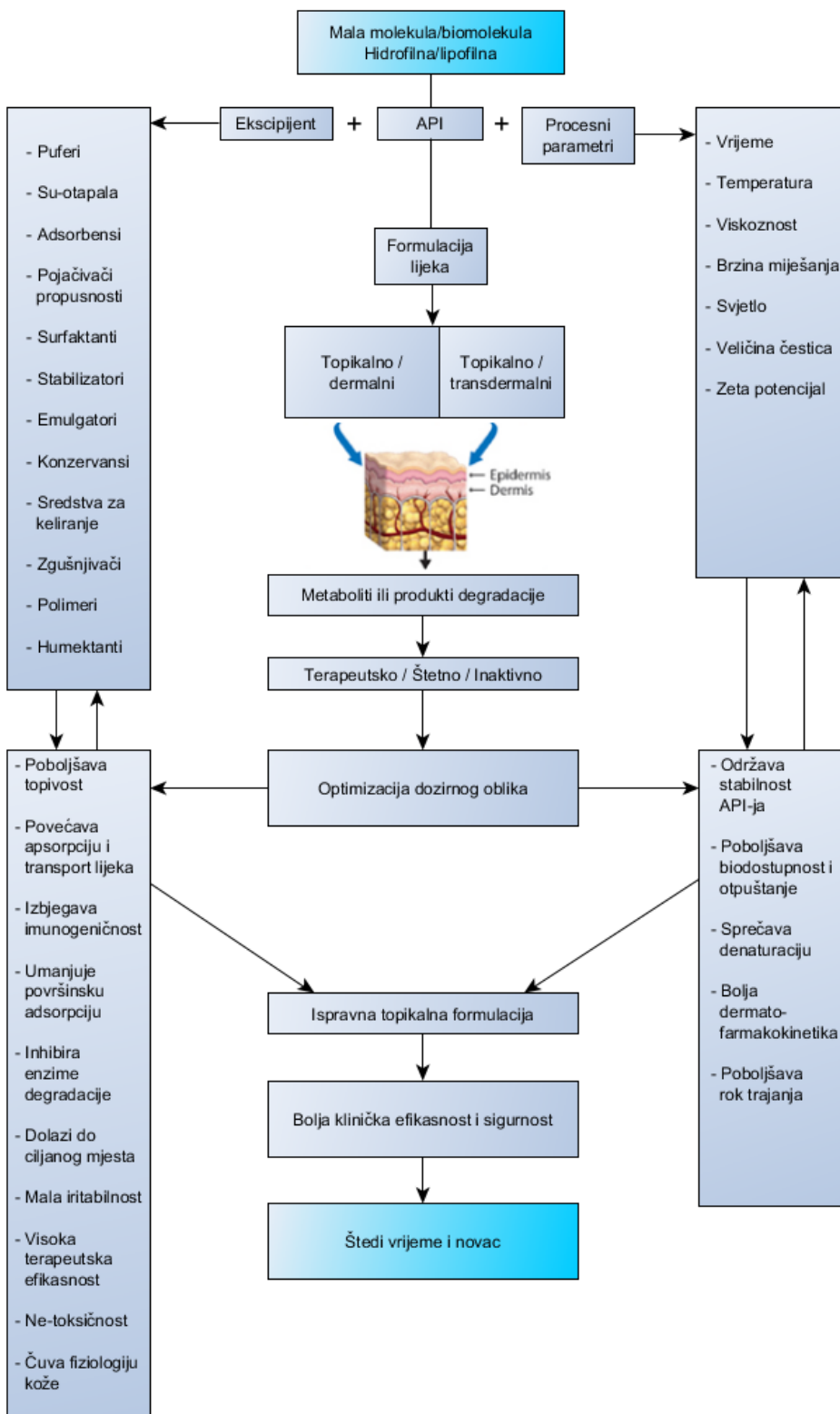
Koža kao najveći organ ljudskoga tijela zauzima površinu oko 2 m² i 10 % tjelesne mase te svojom složenom građom predstavlja veliki izazov učinkovitoj lokalnoj i transdermalnoj primjeni lijekova. S obzirom na veliku površinu i laku dostupnost koža je predmet velikog interesa istraživača kao neinvazivni alternativni put primjene konvencionalnih oralnih i injektabilnih lijekova. Dostava lijeka u/kroz kožu pruža različite prednosti kao što su poboljšana bioraspoloživost lijekova koji se razgrađuju u probavnom sustavu ili pri prvom prolazu kroz jetru, mogućnost dostave lijeka kroz produženi period pri konstantnoj dozi, smanjene nuspojave te poboljšana suradljivost pacijenata (Tablica 1). Naravno, dostava lijekova u/kroz kožu je još uvijek velik izazov jer treba uzeti u obzir varijabilnost između različitih lokacija na koži te primarnu ulogu kože, a to je njena barijerna funkcija, kojom štiti naš organizam od gubitka vode, elektrolita i drugih tvari te sprečava ulaz nepoželjnim i štetnim tvarima iz okoline (Montenegro i sur., 2016; Goreta, 2014).

Tablica 1. Prednosti i nedostatci dostave lijeka u/kroz kožu (Brown i sur., 2006).

PREDNOSTI	NEDOSTATCI
<ul style="list-style-type: none"> • izbjegnut metabolizam prvog prolaska kroz jetru te ostale varijable povezane s probavnim sustavom kao što su pH, brzina pražnjenja crijeva • održana i kontrolirana dostava lijeka kroz određeno vrijeme • izbjegavanje nuspojava vezanih uz sistemsku toksičnost • bolje prihvaćanje i suradljivost pacijenata • direktan pristup mjestu oboljenja kod bolesti kože kao što su psorijaza, ekcemi i 	<ul style="list-style-type: none"> • molekularna masa manja od 500 Da kako bi se osigurala difuzija kroz rožnati sloj kože • log P između 1-3 • varijabilnost u permeabilnosti lijeka kod zdrave i oštećene (oboljele) kože • predsistemski metabolizam lijeka - prisutnost enzima kože kao što su peptidaze i esteraze koje mogu metabolizirati lijek u oblik koji je

<p>gljivična oboljenja</p> <ul style="list-style-type: none"> • brzo uklanjanje pripravka u slučaju nuspojava • konvencionalna i bezbolna primjena • zbog jednostavnosti rukovanja mogu se smanjiti troškovi liječenja 	<p>terapijski inaktivan, tj. smanjuje se djelotvornost lijeka</p> <ul style="list-style-type: none"> • iritacije i senzibilizacije kože
---	--

Apsorpcija lijeka kroz rožnati sloj kože određuje njegovu bioraspoloživost nakon topikalne dermalne primjene. Bioraspoloživost topikalnih dermalnih pripravaka ovisi o fizičko-kemijskim svojstvima lijeka, formulacijskim parametrima dermalnog pripravka te o stanju kože. Međutim, obim dermalnog prijenosa djelatne tvari ovisi o složenom međudjelovanju same djelatne tvari u smislu njezinih fizičko-kemijskih značajki s podlogom dermalnog pripravka u koju je takva djelatna tvar uklopljena. Istodobno, podloga s uklopljenom djelatnom tvari utječe na oslobađanje djelatne tvari iz podloge i njezin prijenos u rožnati sloj kože. Nadalje, podloga prilagođena tipu i stanju kože ima brojne pozitivne učinke na kožu i može pozitivno utjecati na dermalni prijenos uklopljenih djelatnih tvari. Sastav podloge (primjerice, vrsta i udio hidrofilnih i hidrofobnih emolijensa te površinski aktivnih tvari) i farmaceutsko-tehnološke značajke podloge (primjerice, veličina kapljica/čestica disperzne faze, supramolekulska organizacija površinski aktivnih tvari) u velikoj mjeri određuju takva složena međudjelovanja i djelotvornost dermalnog pripravka. Konačni učinak dermalnog pripravka ovisit će o kompleksnom međudjelovanju djelatne tvari, podloge i kože (Slika 2).



Slika 2. Shematski prikaz procesa razvoja optimalne formulacije (prilagođeno prema <http://drug-dev.com/topical-delivery-the-importance-of-the-right-formulation-in-topical-drug-development>)

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Obim dermalnog prijenosa djelatne tvari ovisi o složenom međudjelovanju same djelatne tvari u smislu njezinih fizičko-kemijskih značajki s podlogom dermalnog pripravka u koju je takva djelatna tvar uklopljena. Istodobno, podloga s uklopljenom djelatnom tvari utječe na oslobađanje djelatne tvari iz podloge i njezin prijenos u rožnati sloj kože. Nadalje, podloga prilagođena tipu i stanju kože ima brojne pozitivne učinke na kožu i može pozitivno utjecati na dermalni prijenos uklopljenih djelatnih tvari. Sastav (primjerice, vrsta i udjel hidrofilnih i hidrofobnih emolijensa te površinski aktivnih tvari) i farmaceutsko-tehnološke značajke podloge (primjerice, veličina kapljica/čestica disperzne faze, supramolekulska organizacija površinski aktivnih tvari) u velikoj mjeri određuju takva složena međudjelovanja i djelotvornost dermalnog pripravka.

Cilj ovog specijalističkog rada je pregledno opisati, detaljno analizirati i kritički raspraviti bitne čimbenike koji utječu na djelotvornost dermalnog pripravka.

3. MATERIJAL I METODE - SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI

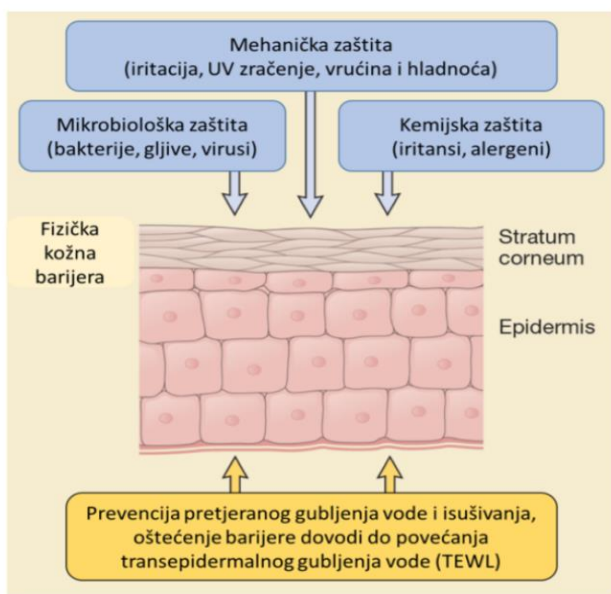
Pretraživanje literature online baza podataka obavljeno je elektroničkim putem pomoću umreženog računala koje ima online pristup bazama podataka. Pretražene su bibliografska baza podataka PubMed i baza Elsevier, ScienceDirect.

Literatura je pretraživana prema temi istraživanja, predmetu istraživanja, autorima i časopisu. Pretraživanje je provedeno od općih prema specijaliziranim člancima pri čemu su odabrani članci relevantni za problematiku ovoga specijalističkog rada. Relevantni članci su proučavani na analitički i kritički način s obzirom na definiranje znanstvenog i/ili stručnog problema, istraživanje postojećih znanja o definiranom problemu (literaturni navodi), oblikovanje radne hipoteze, odabir metoda za ispitivanje hipoteze, prikaz i analizu rezultata te izvedene zaključke.

Pri proučavanju relevantnih članaka izdvojeni su najvažniji rezultati, rasprave i zaključci koji su prikazani ovim specijalističkim radom. Pretraživanjem baza podataka znanstvene literature dat je pregled najnovijih saznanja o čimbenicima koji utječu na djelotvornost dermalnog pripravka te o složenom međudjelovanju djelatne tvari, podloge i kože.

3.1 Značajke kože kao mjesta primjene dermalnog pripravka

Koža je najveći i najteži organ ljudskog tijela, koji prosječno pokriva gotovo 2 m² površine tijela te ima oko 10% tjelesne mase. Ona predstavlja granicu između tijela i njegove okoline, omogućujući obavljanje vitalnih tjelesnih funkcija u kontroliranoj fiziološkoj sredini. Pored toga, koža je organ putem kojeg se odvija dio naše interakcije sa svijetom oko nas. Jedan oblik te interakcije je izmjena tvari između tijela i njegovog okruženja, koja je u pravilu precizno regulirana. Koža je vrlo selektivna oko tvari koje propušta u i iz tijela i kojom brzinom ih propušta. To predstavlja izazov pri primjeni dermalnih pripravaka, jer se molekule pripravka slabo apsorbiraju zbog slabe propusnosti kože. Kožna barijera je po svojim svojstvima fizička, kemijska i imunološka barijera. Fizičku barijeru čini primarno rožnati sloj, tj. on predstavlja glavni faktor koji ograničava brzinu izmjene tvari između tijela i okoliša kroz kožu. Ova fizička barijera, pored sprečavanja ulaska egzogenog materijala, sprečava i prekomjerni gubitak vode iz organizma. Stoga je cilj istraživača povećati propusnost kože, a da bi se to postiglo, potrebno je poznavati značajke kože kao i mehanizme molekularnog transporta kroz kožu (Slika 3)(Čajkovac, 2005).

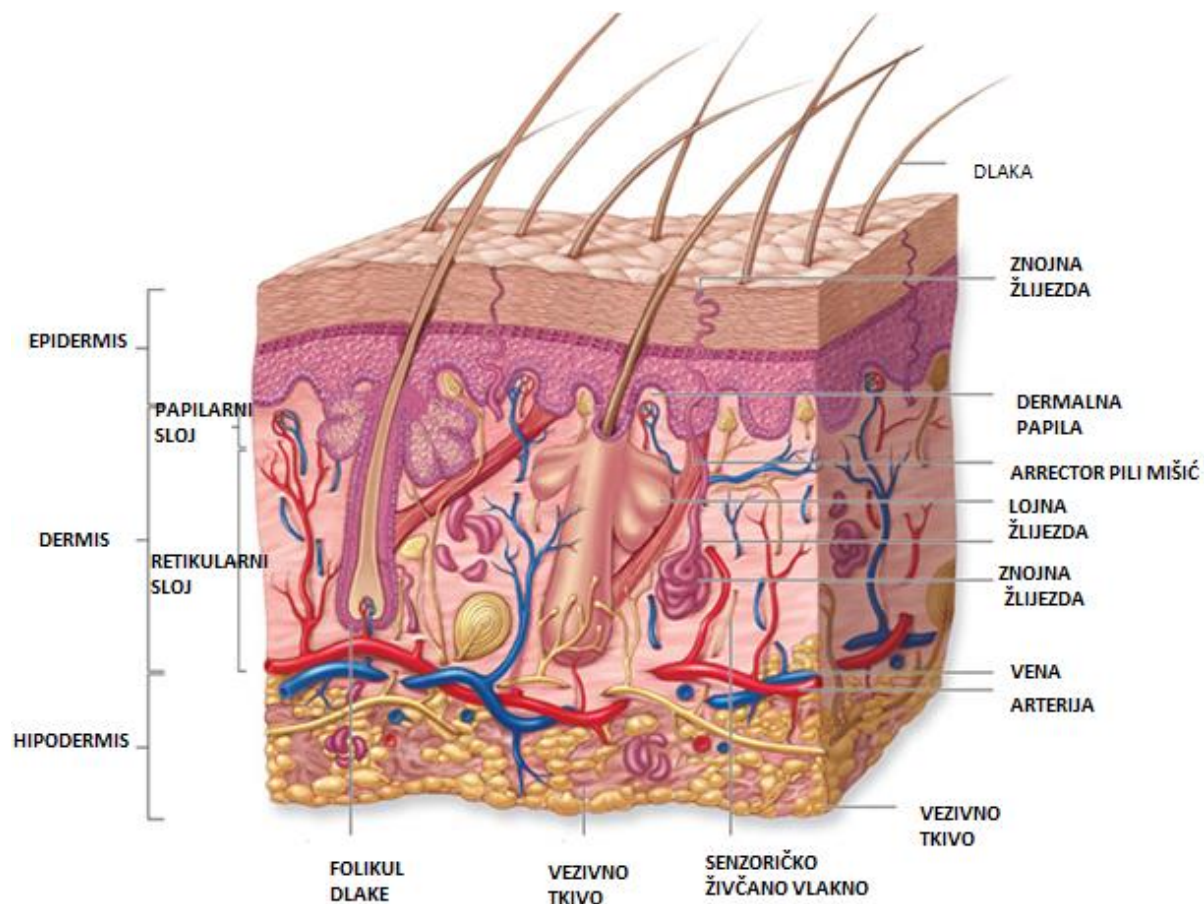


Slika 3. Shematski prikaz funkcija epidermalne barijere (Matas, 2017).

Ljudska koža je stratificirani epitel, što znači da se svaki sloj tkiva sastoji od različitih tipova stanica koji imaju različite uloge. Koža (integumentum commune) građena je iz sljedećih slojeva:

- epidermis (pokoža)
- dermis (koža, corium, cutis)
- hypodermis (potkožno tkivo, subcutis).

Privjesci kože, kao što su folikuli, lojne i znojne žlijezde i kanali prolaze kroz različite slojeve kože (Slika 4).



Slika 4. Shematski prikaz građe kože (prilagođeno prema Mescher AI: Junqueira's Basic Histology:Text and Atlas, 12th Edition: <http://www.accessmedicine.com>).

3.1.1 Epidermis

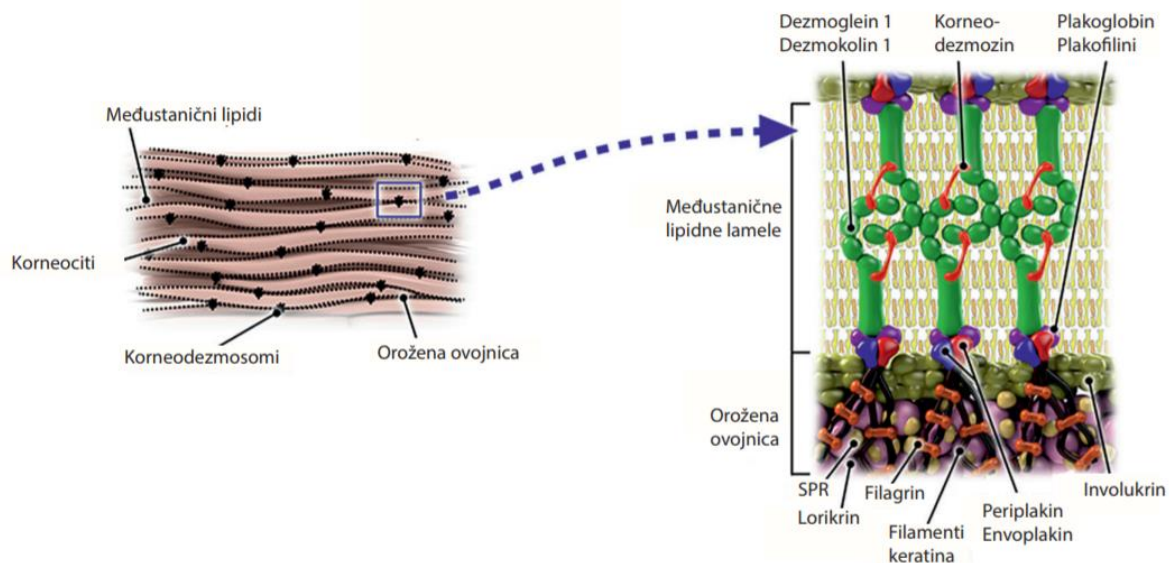
Epidermis je vanjski sloj kože koji vidimo i dodirujemo, debljine oko 0,12 mm, štiti nas od toksina, bakterija i gubitka tekućine. Sastoji se od niza podslojeva stanica keratinocita. Ove stanice, proizvedene u najdubljem bazalnom sloju, migriraju gore prema površini kože. Dok to čine, one sazrijevaju i prolaze kroz niz promjena u procesu koji se naziva keratinizacija ili kornifikacija (Čajkovac, 2005).

Epidermis se dalje može podijeliti, izvana prema unutra na:

- rožnati sloj (*stratum corneum*)
- zrnati sloj (*stratum granulosum*)
- trnasti sloj (*stratum spinosum*)
- bazalni sloj (*stratum basale*, *stratum germinativum*) (Barel i sur., 2009).

Bazalni i trnasti sloj se u literaturi nalaze i pod zajedničkim imenom Malpighijev sloj. Stratum lucidum se nalazi na dijelovima tijela na kojima je koža zadebljana (npr. na dlanu ili tabanu) te se ne smatra posebnim epidermnim slojem, već dubljim dijelom rožnatog sloja (<http://www.eucerin.hr/o-kozi/osnovni-podaci-o-kozi/struktura>). Žive slojeve epidermisa čine zrnati sloj (lat. *stratum granulosum*), trnasti ili nazubljeni sloj (lat. *stratum spinosum*) i bazalni sloj (lat. *stratum basale*), a svaki od njih je značajno hidrofilan (Karadzovska i sur., 2013).

Rožnati sloj



Slika 5. Prikaz glavnih strukturnih komponenti rožnatog sloja (Matas, 2017).

Rožnati sloj (Slika 5.) je vanjski sloj kože. Debljine je 10-20 μm a sastoji se od 10-15 slojeva korneocita - proteinima bogatih stanica i međustaničnog matriksa bogatog lipidima. Rožnati sloj je čvrsta barijera prodiranja različitih tvari u kožu i barijera gubitku vode iz kože/organizma (Menoni sur., 2012). Svaka promjena u diferencijaciji keratinocita i sastavu/organizaciji lipida rezultira promjenom funkcije barijere kože.

Glavne strukturne komponente rožnatog sloja su:

- KORNEOCITI - između 18 i 20 slojeva spljoštenih stanica ovisno o području kože; osiguravaju fizičku barijeru. Ovojnica korneocita je izrazito lipofilna, višeslojne je strukture a stabilnost joj je uvjetovana umrežavanjem njezinih proteina. Pri stvaranju ovojnice korneocita sintetiziraju se envoplakin i periplakin te se spajaju s dezmosomima (Rawlings i sur., 2008). Sljedeći se sintetizira involukrin i povezuje s elafinom, malim proteinom bogatim prolinom i lorikrinom pri

čemu nastaje struktura “cigle” važna za buduće procese očvršćivanja. Membrana bogata fosfolipidima zamjenjuje se slojem ceramida koji se vežu za proteine (Goreta, 2014.).

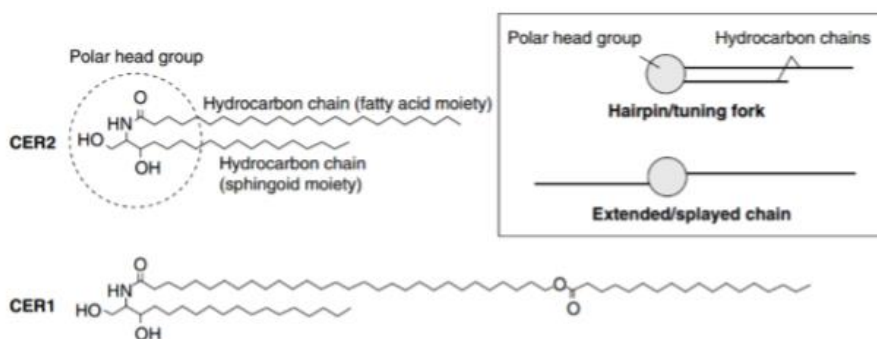
- KORNEODEZMOSOMI - funkcioniraju kao “zakovice” koje drže korneocite na okupu. Razgradnja korneodezmosoma je fiziološki kontrolirana što osigurava normalno ljuštenje (deskvamaciju) vanjskog rožnatog sloja. Integritet rožnatog sloja osiguran je proteinima međustaničnog matriksa koji se nazivaju korneodezmosomi. Tri proteina – desmoglein-1 (Dsg 1), desmokolin-1 (Dsc 1) i korneodezmosin (Cdsn), čine korneodezmosome i povezuju susjedne korneocite. Ovi se proteini vežu u kompleks pomoću enzima transglutaminaze, a kontrolirano se razgrađuju proteolizom koja omogućava ljuštenje korneocita. (Caubeti sur., 2004).

Komponente korneodezmozoma postupno razgrađuju enzimi tijekom procesa u kojem dublji slojevi potiskuju korneocite prema površini kože. Kao rezultat oslabljenih korneodezmosoma na vanjskoj površini kože, vanjski sloj korneocita se ljušti trenjem prilikom trljanja ili pranja. Ovaj proces je normalan zaštitni mehanizam kože koji sprečava patogene da nasele kožu i naziva se deskvamacija ili ekfolijacija. Kod zdrave kože, deskvamacija je nevidljivi proces pri kojem se rožnati sloj u potpunosti obnovi kroz 2 do 4 tjedna, pri čemu zadržava jednaku debljinu (Wilhelmi sur., 1990; Rawlings i sur., 2008).

- MEĐUSTANIČNI LIPIDI - lipidni matriks koji ispunjava prostor između korneocita; složena je i jedinstvena smjesa približno 13 vrsta ceramida (45-50%), kolesterola (25%), slobodnih masnih kiselina (10%) i triglicerida raspoređenih u lipidnim lamelama - reguliraju propusnost epidermalne barijere (Menon i sur., 2012). Dosta napora se ulaže u razjašnjavanje zaštitne funkcije lipida u rožnatom sloju, budući da je lipidima bogat izvanstanični matriks vjerojatno ključan za zaštitnu funkciju kože (Bouwstra i sur., 2002). Lipidi su u ravnoteži između čvrstog kristaličnog stanja (ortorombsko pakiranje) i gel (heksagonalno pakiranje) ili tekućeg stanja (Rawlings i sur., 2008). Nedostatak bilo kojeg od lipidnih sastojaka rezultira nepravilnostima u

barijeri koje se karakteriziraju povišenim transdermalnim gubitkom vode (TEWL) kao i strukturnim promjenama rožnatog sloja (Menon i sur., 2012).

U rožnom sloju identificirano je jedanaest klasa ceramida, koji obuhvaćaju 342 pojedine vrste ceramida. Svaka molekula ceramida sastoji se od polarne glave i dva ugljikovodična lanca. Jedan ugljikovodični lanac predstavlja sfingoidni dio (sfingozin, fotosfingozin, 6-hidroksisfingozin ili dihidroksisfingozin), dok je drugi masni ugljikovodik derivat masnih kiselina ili estera masnih kiselina (Slika 6).



Slika 6. Prikaz strukture ceramida (Masukawa i sur., 2008).

Polarna glava ceramida može imati lateralne vodikove veze pri čemu se slaže u rešetkastu strukturu unutar lipidnih dvosloja. Ugljikovodični lanci su uglavnom zasićeni, uz poneke iznimke, te mogu biti vrlo različite duljine (Bouwstra i Gooris, 2010).

Ceramidi koji imaju lanac na bazi estera zasićenih masnih kiselina imaju vrlo dugačke lance. Dok tipični ceramid ima ukupno 38-54 ugljikovih atoma, oni imaju 66-72 ugljikovih atoma. Kolesterol omogućava fluidizaciju lipidnog dvosloja pri tjelesnoj temperaturi. Kolesterol sulfat, koji čini 2-5% masenog udjela lipida u rožnom sloju olakšava formiranje lipidnih lamela i stabilizira rožnati sloj inhibiranjem enzimatske razgradnje korneodezmosoma. Točan raspored lipida rožnatog sloja u izvanstaničnom matriksu ostaje predmet intenzivnog istraživanja (Ng i Lau, 2015).

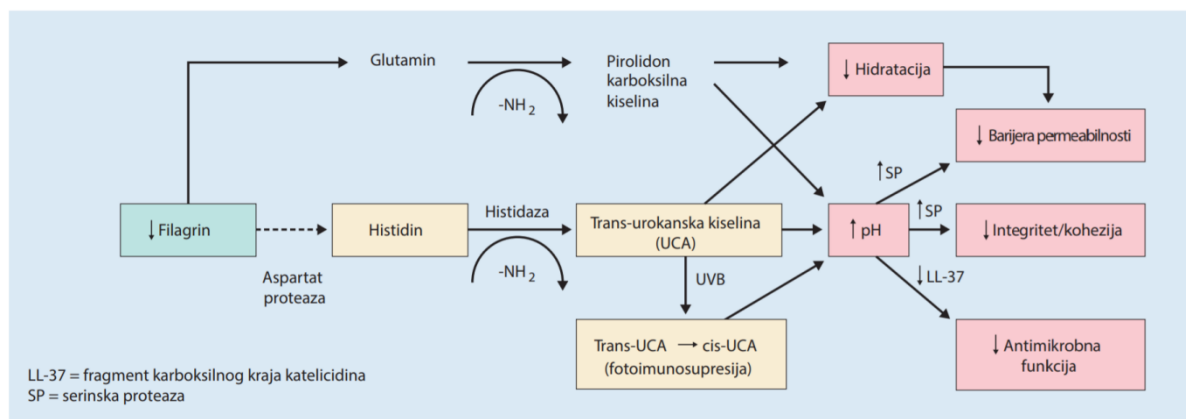
- ENZIMI -

a) LIPOLITIČKI - lipaze, fosfolipaze, sfingomijelinaze, β -glukocerebrozidaze, kolesterol sulfataze - pridonose biokemijskoj aktivnosti rožnatog sloja vezano za metabolizam lipida.

b) PROTEOLITIČKI - luče ih lamelarne granule te pridonose biokemijskoj aktivnosti rožnatog sloja vezano za razgradnju korneodezmosoma.

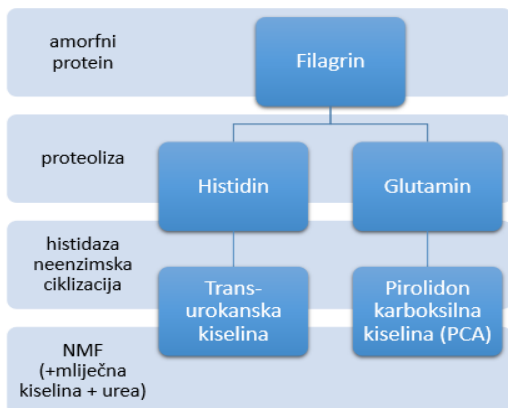
- KERATINI - intermedijarni fibrilarni proteini - Oni su glavni strukturni proteini koji se sintetiziraju u keratinocitima te imaju glavnu ulogu u keratinizaciji. Njihove glavne funkcije u epidermisu su održavanje strukturnog integriteta, održavanje prostornog odnosa jezgre i citoplazmatskih organela te prijenos podataka između jezgre i površine stanica u oba smjera tj. stanična komunikacija.

- FILAGRIN - je jedan od epidermalnih proteina, ključan je za stvaranje korneocita i intracelularnih metabolita koji doprinose održavanju vlažnosti sloja stratum korneum i kiselog pH površine kože (Čepelaki sur, 2016). Filagrin je strukturni protein rožnatog sloja koji u svojem slobodnom obliku veže intermedijarne filamente keratina stvarajući makrofibrile. Ima središnju ulogu u stvaranju kompaktnog, netopljivog intracelularnog matriksa, kritičnog za normalnu funkciju SC-a. Peptidi filagrina se razgrađuju u hidrofilne aminokiseline uključujući trans-urokansku kiselinu, pirolidon karboksilnu kiselinu i alanin. Trans-urokanska kiselina štiti od UV zračenja te ima imunomodulacijsko djelovanje (Kamata i sur., 2009). Argininski ostaci u filagrinu se razgrađuju u citrulin → proteoliza → kratki peptidi → smjesa higroskopskih aminokiselina i derivata: prirodni čimbenici vlažnosti (engl. Natural Moisturizing Factor; NMF) (Sandilands i sur., 2009).



Slika 7. Učinak smanjene produkcije filagrina na funkcije rožnatog sloja (prilagođeno prema Prausnitz i sur., 2012).

• **PRIRODNI ČIMBENICI VLAŽNOSTI (NMF)** - smjese humektansa koji se zajedničkim imenom nazivaju prirodni čimbenici hidratacije, čine oko 20-30% suhog sadržaja rožnatog sloja a pomažu održati rožnati sloj hidratiziranim tj. omogućavaju vezanje vode; te u vodi netopljive stanične stjenke koja je građena od visoko umreženih proteina, uključujući lorikrin, involukrin i filagrin. Većina aminokiselina koje čine NMF nastaju proteolizom filagrina. NMF skupini pripadaju amino kiseline, pirolidonkarboksilna kiselina, laktati, urea, anorganski ioni, glicerol i hijaluronska kiselina (Goreta, 2014).



Slika 8. Proteoliza filagrina i nastanak NMF (Pepić i Filipović-Grčić, 2017).

- **PRODUKTI EPIDERMALNIH LAMELARNIH GRANULA NA GRANICI ROŽNATOG I ZRNATOG SLOJA** - Lamelarne granule na prijelazu zrnatog i rožnatog sloja izlučuju svoj sadržaj u prostor između ta dva sloja i time stvaraju vodonepropustan sloj (Menon i sur., 2012).

Uglavnom sadržavaju fosfolipide, glukozilceramide i kolesterol kao i hidrolitičke enzime.

- **VODA** - Udio vode u rožnatom sloju povećava se od površine prema dubljim slojevima epidermisa. Živi slojevi epidermisa opskrbljuju vodom rožnati sloj a istodobno se ista količina vode gubi isparavanjem s površine kože. 25% vode rožnatog sloja je vezana voda koja se nalazi u korneocitima. Voda olakšava slojevima kože rastezanje i savijanje te je važna u održavanju metabolizma, enzimske aktivnosti, mehaničkih osobina, izgleda i barijerne funkcije kože. Sadržaj vode u rožnatom sloju mora biti veći od 10% da bi koža bila normalnog izgleda i funkcije (Loden, 2003).

Navedene komponente oblikovane su u strukturu poznatu kao „cigla i žbuka“. Ova struktura nastaje složenim procesom terminalne epidermalne diferencijacije (Hojan i Stemmler, 2007).

Živi epidermis

Izuzev rožnatog sloja, ostatak epidermisa sastoji se od stanica s jezgrom te predstavlja živi epidermis. Živi epidermis je obično debljine 50-100µm i nema krvne kapilare niti živčane završetke. Sastoji se primarno od keratinocita (95%), dok su ostalo Langerhanove stanice, melanociti i Merkelove stanice. Keratinociti se uzdižu iz bazalnog sloja i prolaze postupnu diferencijaciju dok putuju prema rožnatom sloju. Diferencijacija keratinocita karakterizirana je povećanjem keratinizacije (formiranjem unutarstaničnih mreža keratinskih vlakana), formacijom lamelarnih tijela koja luče lipide rožnatog sloja te gubitkom staničnih organela i jezgri. Proces završava nastankom korneocita u rožnatom sloju. Diferencija keratinocita održava debljinu rožnatog sloja nadomještanjem korneocita i lipidnog sloja izgubljenih deskvamacijom (Ng i Lau, 2015).

3.1.2 Dermis

Odmah ispod epidermisa nalazi se dermis. Dermis je obično debljine ≥ 1 mm i čini veći dio kože, te je nositelj njene elastičnosti i čvrstoće. Dijeli se na gornji papilarni (lat. stratum papillare) i donji retikularni dio (lat. stratum reticulare). Papilarni sloj je utisnut u epidermis i sastoji se od snopova kolagena, elastičnih vlakana, fibrocita i uglavnom sadrži vodu, elektrolite, plazmatske proteine te polisaharidne i polipeptidne komplekse. Sadrži i krvne kapilare, završetke živaca i osjetna tjelešca za dodir (Meissnerova tjelešca). Također sadrži niz imunskih stanica, uključujući makrofage i kožne dendritske stanice. Papilarni dermis sadrži papile koje se prepliću s bazalnim slojem epidermisa u tzv. dermo-epidermalnom spoju (engl. junction). Dermis sadrži folikule dlaka, znojne žlijezde, lojne žlijezde, završetke osjetljivih živaca, limfne žile i krvne kapilare do dermalne strane dermo-epidermalnog spoja. Ovo omogućuje dostavu nutrijenata i kisika, odnošenje otpadnih tvari iz avaskularnog epidermisa putem difuzije kroz dermo-epidermalni spoj (Ng i Lau, 2015).

U retikularnom sloju nalaze se gusti snopovi kolagena upleteni u mrežu elastičnih vlakana zatim krvne i limfne žile, živci, receptori za hladnoću (Krauseovi klipovi), žlijezde lojnice i kostriješni mišić (m. arrector pili). Ovaj sloj osigurava koži čvrstoću i žilavost (Čajkovac, 2002).

Slično kao i kod živih slojeva epidermisa, difuzija lijekova kroz dermis također je difuzija u vodenom mediju. No svejedno postoje važne razlike između ta dva sloja: vaskularizacija i limfni sustav dermisa značajno pridonose prijenosu lijekova i njihovoj raspodjeli u kožu; dermis je uglavnom bez stanica; i dermis pruža mnoge mogućnosti za vezanje i sekvencijalnu ulogu lijekova (Jepps i sur., 2013).

3.1.3 Hipodermis

Hipodermis je najdublji sloj kože. Hipodermis se uglavnom sastoji od subkutanog (potkožnog) masnog tkiva. U ovom sloju su veće limfne i krvne žile. Njegova uloga je apsorpcija pritiska kojem je koža podvrgnuta i zaštita od promjene tjelesne temperature.

3.1.4 Fiziološki čimbenici kože koji utječu na bioraspoloživost djelatne tvari

3.1.4.1 Stanje i tip kože (zdrava, bolesna, iritirana, suha, masna)

Stanje kože ima značajan utjecaj na penetraciju i permeaciju djelatne tvari, pogotovo kada je barijerna uloga kože ugrožena. Bolesti kao što su psorijaza i atopijski ekcem su karakterizirane značajnim nedostatkom granulocitnog sloja živućeg epitela što utječe na permeaciju djelatne tvari (Padma i sur.,2012).

3.1.4.2 Dob, spol, rasa

Nedonoščad i djeca male porođajne mase nemaju u potpunosti razvijen rožnati sloj, no u potpunosti funkcionalan rožnati sloj razvija se unutar četiri tjedna nakon rođenja.

Tijekom starenja dolazi do različitih promjena u koži koje uključuju:

1. Povećanje suhoće rožnatog sloja;
2. Smanjenje aktivnosti lojnih žlijezda što rezultira smanjenom količinom površinskih lipida;
3. Dolazi do izravnjavanja dermalno – epidermalnih spojeva;
4. Dolazi do atrofije kožnih kapilara što rezultira slabijom opskrbom epidermisa krvlju što upućuje na smanjeni klirens djelatne tvari u rožnatom sloju te smanjeni fluks djelatne tvari (Perrie i sur., 2012).

Iz ovih navoda je vidljivo da sa starenjem dolazi do suhoće rožnatog sloja i do smanjenja količine površinskih lipida što s godinama može dovesti do smanjene permeabilnosti lijekova topivih u lipidima što uzrokuje smanjenu djelotvornost takvih lijekova.

Redukcija aktivnosti lojnih žlijezda uzrokuje suhoću kože i time smanjuje broj putova dostave lijeka. Atrofija kapilarne mreže uzrokuje graduirano smanjenje dotoka krvi u živi epidermis što znači da će manja količina lijeka doći do sistemske cirkulacije. Sagledavši sve ove promjene uočena je povećana barijerna funkcija rožnatog sloja za relativno hidrofilne tvari kod starije populacije. Zbog promjena u farmakokinetici i farmakodinamici lijekova kod starije populacije treba uzeti u obzir prilagodbu doze lijekova (Kaestli i sur., 2008).

S obzirom na spol, koža muškaraca je veća barijera prijenosu aktivnih tvari u odnosu na kožu žena.

3.1.4.3 Prokrvljenost kože

Promjene u perifernoj cirkulaciji ne utječu na transdermalnu apsorpciju. Povećani protok krvi može utjecati na zadržavanje difundirajućih molekula u dermisu što rezultira povećanjem koncentracijskog gradijenta molekula lijeka kroz kožu. Uočeno je da je penetracija diklofenaka, salicilne kiseline i antipirina pojačana kod redukcije prokrvljenosti kože izazvane upotrebom fenilefrina kao vazokonstriktora (Padma i sur., 2012).

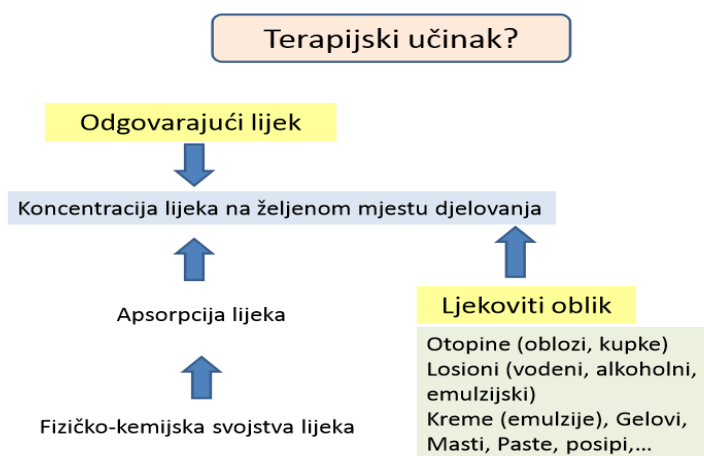
3.1.4.4 Razlike u permeabilnosti kože po određenim regijama tijela

Svi dijelovi tijela nisu jednako permeabilni zbog varijacija u debljini rožnatog sloja, broju lojnih žlijezda te statusu hidratacije. Trenutno dostupni podatci te kliničko iskustvo sugeriraju regionalnu permeabilnost kože redom: nokti << dlanovi/stopala < trup, ekstremiteti < lice/vlasište << skrotum (Wester i sur., 1999).

Značajno permeabilniji od ostalih dijelova tijela se smatraju kapci, prepone, pazuh i lice.

3.2 Fizičko-kemijske značajke djelatne tvari

U svijetu se svake godine otkrije velik broj novih aktivnih tvari s odličnim in vitro podacima te velik broj tvari koje pokazuju dobru efikasnost kod in vivo rezultata. Sudeći po tome očekivali bismo na tržištu velik broj aktivnih dermalnih pripravaka, no tome nije tako. Ako pretpostavimo da djelatna tvar ima željeni terapijski učinak, postavlja se pitanje razvoja formulacije koja mora osigurati da se djelatna tvar uklopi ili transformira u efikasni dermalni pripravak. Na žalost većina novih formulacija ne zadovolji testove stabilnosti, a one koje zadovolje često ne prolaze kliničke studije. Razloge tomu treba tražiti u složenim zahtjevima i procesima dostave djelatne tvari u/kroz kožu (Slika 9).



Slika 9. Terapijski učinak dermalnog pripravka (Filipović-Grčić, 2017).

Putevi dostave lijeka u/kroz kožu:

Transport kroz kožu se odvija na tri načina:

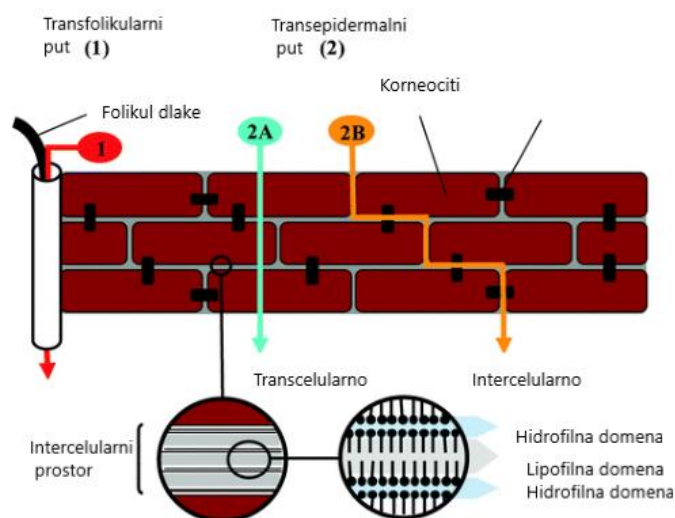
1. transglandularno (žlijezde znojnice)
2. transepidermalno:

- intercelularno - dominantan put, duži od transcelularnog 20 ×
- transcelularno

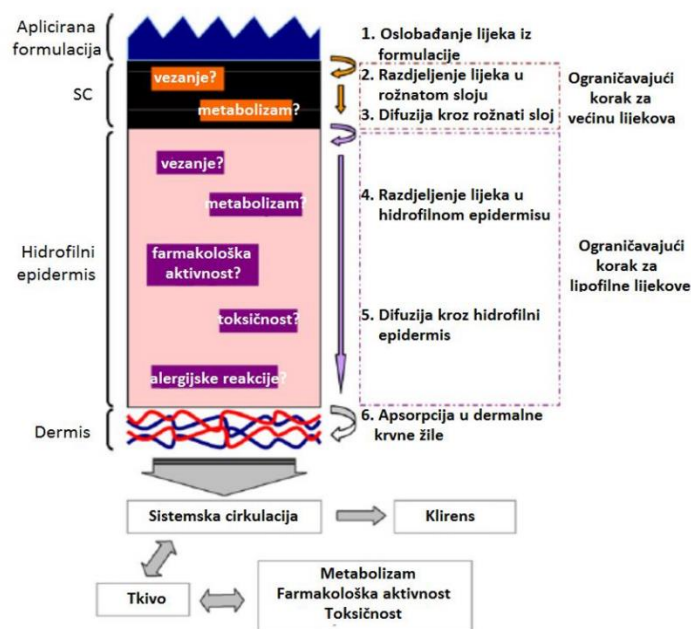
3. transfolikularno (uz folikul dlake).

Postoje različiti putovi kojima molekule mogu prijeći rožnati sloj epidermisa, a to su intercelularni, transcelularni te ekrini put koji uključuje žlijezde znojnice i folikule dlaka. Permeacija putem kožnih privjesaka ne smatra se značajnom jer žlijezde znojnice i folikuli dlaka zauzimaju oko 0,1% ukupne površine kože te predstavlja put prolaska za ione, velike polarne molekule, polimere i koloidne čestice koje ne mogu odmah difundirati kroz rožnati sloj. No, ovaj put bi mogao biti važan za molekule spore difuzije i velike molekulske mase, kao što su nanočestice. Permeacija putem folikula dlaka i žlijezda znojnica bitna je u ranoj fazi difuzije, prije uspostave ravnoteže (Lane, 2013). Glavni put prolaza većine molekula je izravno kroz epidermis. Kroz epidermis većina molekula prolazi kroz lipidne dvosloje intercelularno, dok nešto manji broj hidrofilnih molekula prolazi izravnim transcelularnim putem (Slika 10). Općenito je prihvaćeno da je međustanični lipidni prostor glavni put penetracije kroz rožnati sloj za većinu molekula.

Eksperimentalna istraživanja su pokazala da se većina transporta kroz kožu odvija intercelularnim putovima. Smatra se da su ti putovi puno dulji od debljine rožnatoga sloja (20 μm) i procjenjuje se da je njihova duljina 300-900 μm . Transport molekula ovim putem zahtjeva uzastopnu difuziju i razdjeljenje lijeka između polarnih glava i alkilnih lanaca intercelularnih lipida. Nakon što se djelatna tvar oslobodi iz formulacije dolazi do njezina razdjeljenja u rožnatom sloju, a zatim do difuzije koja je posljedica koncentracijskog gradijenta kroz rožnati sloj. Potom dolazi do daljnjeg razdjeljenja u hidrofilnom epidermisu i difuzije kroz hidrofilni epidermis do dermisa. Limfne i krvne žile u dermisu uklanjaju lijek iz kože čije djelovanje postaje sistemsko (Lane, 2013.). Transcelularni put permeacije lijeka kroz kožu se smatra najmanje bitnim, a kao intercelularni zahtjeva ponavljano razdjeljenje i difuziju lijeka (Wolff, 2014.).



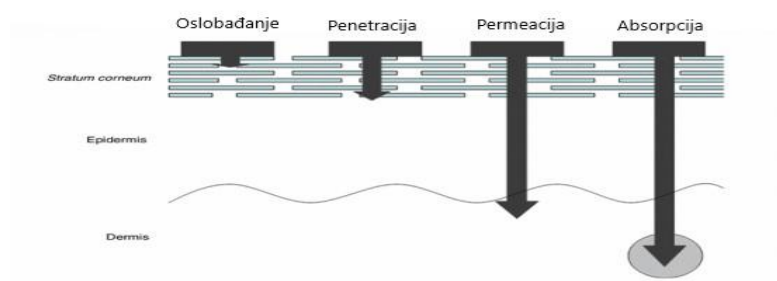
Slika 10. Putevi dostave lijeka u/kroz kožu i građa rožnatog sloja po modelu "cigle i žbuke" (prilagođeno prema Wolff, 2014).



Slika 11. Prikaz procesa uključenih u dermalnu apsorpciju lijekova (prilagođeno prema Lane, 2013.).

Topikalno primijenjen lijek može imati lokalni, regionalni i sistemski učinak. Postoje četiri koraka u transportu djelatne tvari (Slika 12):

1. *Oslobađanje*: Uključuje oslobađanje djelatne tvari iz podloge difuzijom.
2. *Penetracija*: Prijenos djelatne tvari kroz rožnati sloj.
3. *Permeacija*: Difuzija djelatne tvari u dermis i djelomično hipodermis.
4. *Apsorpcija*: Prijenos djelatne tvari u limfu i krvne žile.



Slika 12. Prijenos aktivne tvari iz dermalnog pripravka u različite slojeve kože (prilagođeno prema Daniels i Knie, 2007).

Molekularna, fizičko kemijska svojstva djelatne tvari kao što su naboj, polarnost, oblik, molekularna masa, hidrofilnost/lipofilnost, prokrvljenost (mikrocirkulacija), varijabilnost u debljini rožnatog sloja, razlike u permeabilnosti kože po određenim regijama tijela (kapci, prepone, pazuh, lice, vlasište - permeabilniji od ostalih dijelova) i dr. utječu na prijenos aktivne tvari kroz rožnati sloj.

Mehanizam prijenosa djelatne tvari

Transport kroz rožnati sloj uglavnom se odvija pasivnom difuzijom djelatne tvari iz podloge u kožu što opisuje 1. Fickov zakon difuzije prilagođen dermalnoj primjeni (Karadzovska i sur., 2013). S fizičko-kemijskog gledišta, formulacije koje dostavljaju lijek pasivnom difuzijom moraju omogućiti razdjeljenje djelatne tvari između formulacije i kože te između slojeva kože. Na taj

način postiže se koncentracijski gradijent kroz slojeve kože koji bi trebao biti konstantan (Wolff, 2014).

$$J = \frac{P \times D \times \Delta c}{h}$$

1. Fickov zakon difuzije prilagođen dermalnoj primjeni, gdje su:

- **J** fluks aktivne tvari ($\mu\text{g cm}^{-2}\text{h}^{-1}$)
- **P** koeficijent raspodjele aktivne tvari između rožnatog sloja i podloge
- **D** koeficijent difuzije aktivne tvari u rožnatom sloju (cm^2h^{-1})
- **Δc** koncentracijski gradijent aktivne tvari ($\mu\text{g cm}^{-3}$)
- **h** debljina rožnatog sloja (cm).

Iz 1. Fickovog zakona proizlazi da bi se fluks aktivne tvari **J** mogao povećati povećanjem **P** koeficijenta raspodjele aktivne tvari između rožnatog sloja i podloge, povećanjem **D** koeficijenta difuzije aktivne tvari u rožnatom sloju i povećanjem Δc koncentracijskog gradijent aktivne tvari uz zadržavanje iste debljine rožnatog sloja.

3.2.1 Veličina molekule

Molekulska masa djelatne tvari je dobar indikator veličine molekule a povezana je s koeficijentom difuzije po Stokes-Einstein jednadžbi. Idson je sugerirao inverzni odnos između veličine molekule i transdermalne penetracije. Kako je difuzija djelatne tvari kroz kožu pasivni mehanizam, male molekule putovat će brže kroz kožu od velikih molekula. Što znači da kandidati za dermalnu primjenu ne smiju imati molekulsku masu veću od 500 Daltona (Okyar i sur., 2012).

3.2.2 Ionizacija

Zbog lipofilne prirode rožnatog sloja pretpostavlja se da će ionizirane djelatne tvari biti loši kandidati za prijenos kroz kožu. No, zbog složene građe kože i takve djelatne tvari mogu dospjeti u kožu različitim putovima. Transcelularni put ima intermedijarna svojstva dok je intracelularni put pogodan za dostavu lipofilnih molekula.

Ionizirane molekule mogu prolaziti kroz folikul dlake ili kroz žlijezde znojnice ali količina molekula koja tako prolazi je vrlo mala naspram neioniziranih molekula koje prolaze intracelularnim putem (Williams, 2003).

Prijenos djelatne tvari kroz kožu će ovisiti o stupnju ionizacije i kako ionizacija utječe na topljivost djelatne tvari u podlozi te pri ulasku u kožu (Hadgraft, 2004). Ionizirane djelatne tvari imaju niži koeficijent permeabilnosti od neioniziranih, kako je $\log K_{\text{oct/voda}}$ ioniziranih tvari također niži (Vecchia, 2003).

Sukladno tome, slobodne baze i slobodne kiseline bi se trebale koristiti za poboljšanje prijenosa djelatne tvari.

Raspon vrijednosti pH epidermisa je 7,3-7,4, a pH rožnatog sloja između 4,2-5,6. Koncentracija lijeka koji se nalazi u neioniziranom obliku je funkcija konstante disocijacije lijeka i pH vrijednosti mjesta apsorpcije .

Iz Henderson-Hasselbach jednadžbe proizlazi:

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{(\text{sol})(\text{ionizirani oblik})}{(\text{kiselina})(\text{neionizirani oblik})}$$

Frakcija neioniziranog lijeka je funkcija vrijednosti pH.

3.2.3 Hidrofilnost/lipofilnost djelatne tvari

Topikalno primijenjen lijek mora proći kroz lipofilni dio rožnatog sloja te zatim mora prijeći u hidrofilniju okolinu epidermisa prije nego što dođe do sistemske cirkulacije. Sukladno tomu, lijek mora posjedovati balans topljivosti u vodi i lipidima kako bi postigla sistemsku apsorpciju.

Prijenos djelatne tvari kroz rožnati sloj, to jest topljivost lijeka u membranama rožnatog sloja je limitirajući fizičko kemijski parametar. Koeficijent raspodjele oktanol/voda je najčešće ključni faktor u određivanju puta koji će molekula lijeka slijediti pri prolasku kroz rožnati sloj (Hadgraft, i Wolff, 1993).

Za hidrofilne molekule se očekuje da će prolaziti intracelularnim putem dok će lipofilne molekule prolaziti intercelularnim putem.

Koeficijent raspodjele djelatne tvari u n-oktanolu/vodi **log P** koristi se kako bi opisao prijenos djelatne tvari između lipofilnog rožnatog sloja i hidrofilnih stanica epidermisa (Tenjarla i sur., 1996).

Što su niže vrijednosti log P to je tvar hidrofilnija. Pri odabiru djelatne tvari treba uzeti u obzir da njezina vrijednost log P treba biti veća od 1. Do problema dolazi kada djelatna tvar ima vrijednost log P veću od 3. Takva djelatna tvar se zadržava u rožnatom sloju gdje se akumulira što može dovesti do problema s vremenom postizanja ravnotežne koncentracije lijeka na mjestu djelovanja (Guy i Hadgraft, 1989).

Iz ovih podataka proizlazi da je optimalna vrijednost log P djelatne tvari između 1-3 kako bi se postigao njen zadovoljavajući prijenos kroz kožu te da je njena topljivost u vodi >1 mg/mL.

3.2.4 Koncentracija djelatne tvari

Bitan čimbenik apsorpcije djelatne tvari je koncentracija lijeka u podlozi. Mnogi stariji dermalni pripravci su formulirani s očekivanjem da će s povećanjem koncentracije djelatne tvari pripravak biti potentniji. Takav pristup funkcionira za neke pripravke na pr. tretinoin gel i krema (0,01-0,1%) kod kojih je djelatna tvar u potpunosti topljiva kod svih koncentracija. Hidrokortizon 1% i 2,5% u obliku kreme je jednako potentan kao i triamcinolon acetanid 0,025%, 0,1% i 0,5% kreme.

Do velikog napretka u formulacijama s glukokortikoidima je došlo kada je otkriveno da u formulaciji s fluocinonidom dodatkom propilenglikola u podlogu dolazi do potpune topljivosti djelatne tvari što je dovelo do razvoja potentnijeg pripravka. Noviji pripravci se testiraju u procesu formulacije kako bi se osiguralo da povećanje koncentracije djelatne tvari rezultira povećanom bioraspoloživosti (Sara i sur., 2013).

3.2.5 Talište

Topljivost lijeka u lipidima kože je važan faktor koji utječe na prijenos aktivne tvari u dermis. Dokazan je inverzni odnos između tališta lijeka i prijenosa/ topljivosti djelatne tvari u koži (David i N'Da, 2014). Talište i transdermalni fluks pokazuju inverzni odnos s lipofilnosti tvari ($\log K_{\text{oct/voda}}$). Da bi djelatna tvar bila dobar kandidat za dermalnu formulaciju treba imati talište ispod 200° C (Guy, 2007). Molekule s dobrom topljivošću u vodi i ulju najčešće imaju nisko talište (Hadgraft, 2004).

3.2.6 Mobilnost lijeka

Nakon što se lijek razdijelio u rožnom sloju, mora biti dovoljno mobilan da difuzijom prođe kroz njega. Difuzija kroz biološke membrane ne može se objasniti Stokes-Einstein jednažbom koja opisuje difuziju sferičnih čestica u kontinuiranom tekućem mediju. Difuzijski proces u rožnom

sloju je kompleksniji zbog viskoznosti lipidnog matriksa. Membranska difuzija ovisi o veličini molekule i definirana je izrazom :

$$D_m = D_o \times \exp (-\beta \times M_v)$$

gdje je D_m difuzivnost permeanta kroz membranu, D_o membranska difuzivnost hipotetske molekule, β konstanta karakteristična za membranu i M_v volumen molekule permeanta. Difuzivnost otopljene tvari se eksponencijalno smanjuje s povećavanjem volumena molekule (Naik i sur., 2000).

3.2.7 Ostali čimbenici

Pri odabiru djelatne tvari treba voditi računa i o vezanju djelatne tvari na proteine, ili na mogućnost enzimске razgradnje djelatne tvari u koži.

3.3 Značajke podloge za izradu dermalnih pripravaka

Podloga je nosač djelatne(ih) tvari, u polučvrstim i čvrstim pripravcima, sastavljen od jedne ili više pomoćnih tvari (HRF 4.5). Podloga dermalnog pripravka značajno utječe na topljivost i termodinamičku aktivnost djelatne tvari, što u konačnici određuje raspodjelu djelatne tvari iz podloge u rožnati sloj kože (Rehman i sur., 2014).

Učinkovitost, podnošljivost i apliciranje dermalnog pripravka su direktno povezani sa svojstvima odabrane podloge. Kako bi se postigao optimalan terapijski učinak dermalnog pripravka potrebno je znati sastav, fizikalna svojstva i dermatofarmakološke učinke podloge.

Dermalni pripravak mora osigurati stabilnost i kompatibilnost pomoćnih i djelatnih tvari te lokalnu i sistemsku sigurnost svih komponenti pripravka. Razumijevanje međudjelovanja topikalnih

sirovina/podloga i fizioloških procesa u rožnatom sloju osnova su razvoja dermalnih podloga i pripravaka za dermalnu primjenu (Goretai Pepić, 2014).

3.3.1 Utjecaj sirovinskog sastava podloge na dermalnu bioraspoloživost djelatne tvari

Podloge se mogu klasificirati po različitim kriterijima a slijedeći smjernice Europske farmakopeje podloge se klasificiraju po reološkim svojstvima (tekuće ili polučvrste podloge), polarnosti (hidrofobne ili hidrofilne) i fizikalno-kemijskim svojstvima (jednofazni ili višefazni sustavi) (Fluhr i sur. 1998).

Najčešće upotrebljavane podloge su složene mješavine tvari koje se mogu podijeliti u šest glavnih grupa: hidrofilne tvari, lipofilne tvari, emulgatori, sirovine za povećanje viskoznosti i geliranje, konzervansi i antioksidansi. Pregled osnovnih tvari za izradu dermalnih pripravaka nalazi se naslici 14 (Daniels i Knie, 2007).

Poznato je da podloge imaju značajan utjecaj na dostavu djelatne tvari na/u kožu, ali bez obzira na mnoga provedena ispitivanja još uvijek nije u potpunosti razumljivo kako podloge utječu na permeabilnost kože, pogotovo kompleksne podloge kao na primjer one koje nalazimo u emulzijama. Dodatno, razvoj i postupak formuliranja lijeka ne uključuju samo optimizaciju dostave lijeka na mjesto djelovanja, već im je zadaća ispuniti i zahtjeve koji se tiču kemijske i fizičke stabilnosti lijeka, sigurnosti primjene lijeka i na kraju i estetske prihvatljivosti lijeka. Općenito, pažljivim odabirom podloge, permeabilnost kože za djelatne tvari može se optimizirati, ali zbog interakcija podloga djelatna tvar-koža nije moguće pronaći univerzalnu podlogu koja će biti optimalna za različite djelatne tvari, već se podloge biraju od slučaja do slučaja (engl. case by case) (Daniels i Knie, 2007).

1. Hidrofilne podloge

Glavni sastojak hidrofilnih pripravaka je pročišćena voda a koriste se i alkoholi topivi u vodi kao što su etanol i isopropanol. Polivalentni alkoholi glicerol, propilenglikol i sorbitol djeluju kao humektansi zbog njihove higroskopnosti.




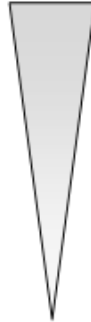
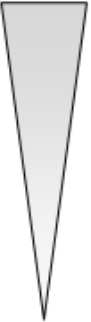


Makrogoli (polietilenglikoli) se također koriste pri izradi hidrofilnih baza kao ko-solventi u vodenim sustavima dok se u bezvodnim sustavima koriste kao hidrofilne nemasne podloge (Daniels i Knie, 2007).

2. Hidrofobne podloge

Sve organske u vodi netopive tvari se koriste pri izradi hidrofobnih podloga. Svojstva ovih uglavnom lipofilnih podloga su uveliko određena njihovom polarnošću i razmazivosti. Razmazivost opisuje lakoću kojom se sirovina raspodjeljuje po površini kože. Tako se sirovina izraženih svojstava razmazivosti brzo apsorbira u kožu i ne ostavlja masni sloj, dok one sirovine loše razmazivosti ostavljaju masni sloj na površini kože i okluzivnog su učinka. Hidrofobne sirovine prema njihovoj polarnosti ugrubo možemo podijeliti u četiri kemijske skupine. Najmanje polarne sirovine su ugljikovodici kao što je vazelin i parafin. Umjereno polarne sirovine uključuju različite voskove (npr. pčelinji vosak) i tekuće voštane estere (izopropilmiristat i etilheksilpalmitat). Polarnije hidrofobne sirovine su trigliceridi srednje duljine lanca i maslinovo ulje. Četvrtu skupinu čine silikonska ulja koja čine različite tvari s karakterističnom poliorganosilikonskom funkcionalnom skupinom. Vrlo su izraženih svojstava razmazivosti, a među najvažnijima su dimetilpolisiloksan (dimetikon), fenilmetilpoliksiloksan i ciklički metilksiloksan (ciklometikon) (Goreta i Pepić, 2014).

3. Emulgirajuće podloge

Smjesa hidrofnbnih i hidrofilnih tvari u pripravku rezultira nastankom termodinamički nestabilne emulzije. Kako bi se pripravak stabilizirao i kako bi mu se osigurao željeni rok valjanosti dodaju mu se emulgatori. Emulgatori se pozicioniraju između lipidne i vodene faze. Najčešće upotrebljavani emulgatori za stabilizaciju farmaceutskih emulzija pripadaju skupini površinski aktivnih tvari (PAT). To su amfifilne molekule koje mogu tvoriti micide ili lamelarne tekuće kristale. PAT klasificiramo kao anionske, kationske, amfolitske i neionske. Neionska PAT je PAT koja se ne ionizira u vodenoj otopini; topljivost u vodi posljedica je postojanja funkcionalnih skupina u molekuli s izrazitom sklonošću prema vodi. Anionska PAT je PAT koja se ionizira u vodenoj otopini dajući negativno nabijene organske ione koji su nositelji površinske aktivnosti. Kationska PAT je PAT koja se ionizira u vodenoj otopini dajući pozitivno nabijene organske ione koji su nositelji površinske aktivnosti. Amfolitska PAT je PAT s dvije ili više funkcionalnih skupina u molekuli koje, ovisno o sredini, mogu biti ionizirane u vodenoj otopini tako da spoj dobije svojstva anionske ili kationske PAT (Daniels i Knie, 2007).

Vrsta podloge	Svojstva podloge		Učinak podloge na kožu					Stadij oboljenja kože
	Udjel vodene faze	Udjel uljne faze	Penetracija djelatne tvari	Antieksudativno	Isušujuće	Učinak hlađenja	Hidratantno	
Vlažni oblozi Otopina Losion U/V emulzija V/U emulzija Pasta Bogata mast Lipogel Ugljikovodični gel								Akutno, koja vlaže Akutno Subakutno Subkronično Kronično Kronično, hiperkeratotično

Slika 13. Izbor podloge ovisno o stadiju oboljenja kože, učinku i značajkama podloge (prilagođeno prema Daniels i Knie, 2007).

Tablica2. Pregledni prikaz osnovnih vrsta tvari za izradu dermalnih podloga i opis njihovih funkcionalnih značajki (prilagođeno prema Chang i sur., 2013).

Emolijensi / Emulgirajuće podloge	Glavne sirovine za izradu polučvrstih podloga	Karnauba vosak, Cetilni alkohol, Cetilni esteri, Lanolin, Mikrokristalični vosak, Parafin, Polietilenglikol, Stearinska kiselina, Stearilni alkohol, Bijeli vosak, Žuti vosak
Emulgatori / Otapala	Stabiliziraju emulzije, poboljšavaju topljivost hidrofobnim tvarima	Polisorbat 20, Polisorbat 80, Polisorbat 60, Poloksamer, Emulgirajući vosak, Sorbitan monostearat, Sorbitan monooleat, Natrijev lauril sulfat, Propilenglikol monostearat
Humekstansi	Održavaju vlažnost i sprječavaju gubitak vlage	Glicerol, Propilenglikol, Polietilenglikol, Sorbitol, 1,2,6 Heksantriol
Sirovine za povećanje viskoznosti / geliranje	Povećavaju viskoznost Glavne sirovine za izradu gelova	Karbomer, Metil celuloza, Natrijeva karboksil metil celuloza, Karagenan, Guar guma, Hidroksipropil celuloza, Hidroksipropil metil celuloza, Želatina, Polietilen oksid, Alginska kiselina, Natrijev alginat
Konzervansi	Sprječavaju mikrobiološku kontaminaciju	Benzojeva kiselina, Propilparaben, Metilparaben, Imidurea, Sorbinska kiselina, Kalijev sorbat, Benzalkonijev, klorid, Klorbutanol, Fenoksietanol
Pojačivači permeacije	Povećavaju permeaciju tako što povećavaju topljivost djelatne tvari ili njezinu difuziju	Propienglikol, Etanol, Izopropilni alkohol, Polietilenglikol, Oleinska kiselina
Sredstva za keliranje	Vežu metalne ione, smanjuju metalima kataliziranu	Etilen diamin tetraacetat

	razgradnju i poboljšavaju učinak kozervansa	
Antioksidansi	Sprječavaju oksidativnu razgradnju	Butilhidroksianisol, Butilhidroksitoluen
Kiseline / Baze / Puferi	Održavaju pH doznog oblika	Citratna kiselina, Fosforna kiselina, Natrijev hidroksid
Podloga / Otapalo	Olakšavaju disperziju i/ili otapanje djelatne tvari	Pročišćena voda, Heksilenglikol, Propilenglikol, Mineralna ulja, Oleilni alkohol, Propilen karbonat

3.3.2 Utjecaj farmaceutsko-tehnoloških značajki podloge na dermalnu bioraspoloživost djelatne tvari

Djelotvornost, podnošljivost i osobine kozmetičkih proizvoda određene su ne samo kroz individualne aktivne tvari, već i podlogom koja se koristi. Dokazano je da dobro oblikovana podloga, prilagođena odgovarajućoj koži može imati brojne pozitivne učinke (npr. hidratacija i stabilizacija epidermalne barijere). Dok primjerice, vazelin dozvoljava samo umjerenu penetraciju vitamina E u kožu, mikro- ili nanoemulzija može značajno povećati njegovu penetraciju. Cjelokupan oblik zajedno s interakcijom između podloge, aktivne tvari i kože, utječe na djelotvornost proizvoda kao i na oslobađanje aktivne tvari.

Prema Brown i suradnicima (2012) farmaceutski oblici lijekova za topikalnu primjenu dijele se na:

- a) tekuće (emulzije, suspenzije, sprejevi, otopine);
- b) polučvrste (kreme, masti, gelovi, pjene);
- c) čvrste oblike (prašci, flasteri).

Odabir prikladnog farmaceutskog oblika ovisi o fizičko-kemijskim svojstvima djelatne tvari, tipu bolesti koju treba liječiti te željenim svojstvima pripravka. Topljivost djelatne tvari je važna u odabiru optimalnog farmaceutskog oblika. Neadekvatna topljivost djelatne tvari u formulaciji može ometati farmaceutski razvoj: zbog slabe topljivosti ne može se postići ciljana doza u

formulaciji, a s druge strane, velika topljivost dovodi do slabog oslobađanja. Topljivost djelatne tvari može zahtijevati uski raspon otapala koja su prikladna samo za određene farmaceutske oblike (Brown i sur., 2012).

Masti su polučvrsti pripravci okluzivnog učinka. Sastoje se od jednofazne podloge u kojoj su otopljene ili dispergirane djelatne tvari. Prema monografiji Europske farmakopeje (Ph.Eur.9.4) masti mogu biti: (i) hidrofbne (mogu apsorbirati jako malu količinu vode, obično kao podlogu sadrže parafine, biljna ulja, životinjske masti, sintetske gliceride, voskove i tekuće polialkilsiloksane); (ii) emulgirajuće masti (mogu apsorbirati veću količinu vode i na taj način, nakon homogenizacije, stvoriti se V/U ili U/V emulziju; koriste iste podloge kao hidrofbne masti); (iii) hidrofilne (podloga se sastoji od smjese tekućih ili čvrstih makrogola pomiješane s odgovarajućom količinom vode). Odabir podloge za izradu masti ovisi o željenom mjestu djelovanja, svojstvima djelatne tvari koja se ugrađuje u pripravak (o bioraspoloživosti i stabilnosti) i o roku valjanosti lijeka.

Kreme su višefazni pripravci koji se sastoje od lipofilne i hidrofilne faze. To su polučvrsti oblici koji sadrže jednu ili više djelatnih tvari otopljenih ili dispergiranih u odgovarajućoj podlozi, imaju mekanu i lako mazivu konzistenciju, a formulirane su kao V/U ili U/V emulzije. Kod lipofilnih krema kontinuirana faza je lipofilna faza koja sadrži V/U emulgatore kao što su lanolinski alkoholi, esteri sorbitana i monogliceridi, dok hidrofilne kreme imaju kontinuiranu hidrofilnu fazu koja sadrži U/V emulgatore kao što su sulfati masnih alkohola, polisorbati i esteri masnih kiselina (Ph.Eur. 9.4).

Gelovi su polučvrsti pripravci koji s obzirom na otapalo mogu biti lipofilni (oleogelovi ili organogelovi, koriste organsko otapalo) ili hidrofilni (hidrogelovi, kao otapalo koriste vodu) (Ph.Eur.9.4).

Hidrogelovi se sastoje od vodenog medija koji je geliran pomoću odgovarajućih hidrofilnih sredstava za geliranje (npr. hidroksipropilmetilceluloza, karbapol i natrijev alginat). Na taj način stvara se trodimenzionalna hidrofilna mreža polimera koja ima mogućnost apsorpcije velike količine vode. Hidrogelovi se formiraju pomoću kemijskih ili fizičkih veza koje daju umreženu strukturu i osiguravaju fizičku stabilnost. Djelatna tvar se iz hidrogelova oslobađa na dva načina: difuzijom i kemijskom stimulacijom. Oslobađanje difuzijom regulirano je prolaskom kroz polimerni matriks ili erozijom hidrogela, dok kod kemijske stimulacije gelovi bubre zbog vanjskih utjecaja (npr. pH ili temperatura) ili utjecaja enzima, uslijed čega dolazi do otvaranja pora i oslobađanja djelatne tvari. Oslobađanje lijeka difuzijom češće se koristi kod lokaliziranog oslobađanja lijeka.

Organogelovi (oleogelovi) su polučvrsti sustavi koji se baziraju na geliranju otapala pomoću komponenti niske molekularne težine ili pomoću polimera topljivih u ulju (tzv. organogelatori). Na taj način stvara se trodimenzionalna mreža gela u koju su „uhvaćena“ otapala. U razvoju lijekova za dermalnu primjenu kao otapala koriste se organska otapala (npr. benzen, heksan), jestiva ulja (npr. bademovo ulje, maslinovo ulje) i voskovi (npr. karnauba vosak, vosak šećerne trske). Zbog svoje lipofilne prirode, organogelovi povećavaju permeabilnost lijeka kroz SC. U posljednje vrijeme u literaturi se osim navedenih gelova spominju i emulgelovi (kombinacija emulzije i gela), bigelovi (dvofazni gelovi, kombinacija hidrogela i organogela), aerogelovi i kserogelovi (anorganski gelovi, sadrže silikon) niosomski i proniosomski gelovi (sadrže niosome, odnosno proniosome) (Rehman i Zulfakar, 2014).

Pjena je skup plinovitih jedinki razdvojenih tankim slojem tekućine nastao slaganjem mjehura koji daje disperziju s velikim obujamskim udjelom plina dispergiranog u tekućini. Mjehur predstavlja obujam plina zatvorenog u tanku ovojnicu tekućine, a veličina mjehura pretežno je u rasponu 0,1 do 0,3 mm. Pjene su termodinamički i mehanički nestabilni sustavi, a mogu se klasificirati u dva tipa: tekuće i čvrste pjene. Pjene za dermalnu primjenu pružaju određene

prednosti pred klasičnim topikalnim farmaceutskim oblicima (npr. masti, kreme, gelovi) jer ne izazivaju osjećaj ljepljivosti i sjajni izgled nakon primjene te se dobro apsorbiraju u kožu bez ostavljanja masnog traga. Pjene se lako razmazuju na velikim područjima kože primjenom relativno male sile smicanja, a lako se nanose na osjetljivu i jako upaljenu kožu. Nakon primjene pripravak se ne gubi s mjesta primjene, a vrijeme zadržavanja na mjestu primjene moguće je produljiti korištenjem bioadhezivnih polimera pri izradi pjene (Duganić i sur., 2014).

Emulzije su heterogeni sustavi koji sadrže najmanje dvije tekuće faze koje se ne miješaju, od kojih je jedna tekućina (disperzna faza) u obliku kapi dispergirana u drugoj (kontinuirana faza, disperzijsko sredstvo). Ako je uljna faza dispergirana u vodenoj fazi emulzija je U/V tipa, i obrnuto, ako je vodena faza dispergirana u uljnoj emulzija je V/U tipa. Tip emulzije prvenstveno ovisi o emulgatoru (tvar koja stabilizira emulziju), a koji je karakteriziran hidrofilno-lipofilnim omjerom (HLB, engl. hydrophiliclipophilic balance). Postoje različite vrste emulgatora, površinski aktivne tvari, polimeri, proteini i fino usitnjene krute čestice, a zajedničko im je da sprečavaju spajanje kapljica disperzne faze i tako stabiliziraju emulziju. Ovisno o konzistenciji, emulzije mogu biti u rasponu od tekućih (losioni) do polučvrstih (kreme) oblika (Otto i sur., 2009).

Suspenzije za kožu su grubodisperzijski sustavi u kojima disperznu fazu čini čvrsta tvar koja je u tekućem disperzijskom sredstvu praktički netopljiva ili barem teško topljiva (Senjković, 1994).

Sprejevi za kožu su pripravci koji se formiraju od kapljica otopine koja sadrži otoplenu djelatnu tvar. Kapljice se mogu formirati na različite načine, ali u osnovi formiraju se prolaskom otopine kroz posebno dizajnirani sklop mlaznica, prilikom čega nastaju kapljice otopine koje sadrže otoplenu djelatnu tvar. Kod sprejeva za kožu svakim potiskom osigurava se dostava određene količine otopine, odnosno određene količine djelatne tvari.

Otopine za kožu su tekući pripravci koji sadrže jednu ili više otopljenih djelatnih tvari. Obično su to vodeni pripravci, ali često sadrže i druga otapala kao što su alkoholi i poliolli. Prema količini otopljene djelatne tvari pri određenoj temperaturi, otopine mogu biti nezasićene, zasićene i

prezasićene. Otopine lijekova najčešće su nezasićene jer primjenom zasićenih i prezasićenih otopina može doći do predoziranja zbog mogućnosti variranja količine otopljene djelatne tvari ovisno o temperaturi. Preduvjet za postizanje djelotvornosti je dostatna topljivost djelatne tvari. Na topljivost se može utjecati tehnološkim postupcima kojima se uglavnom povećava površina djelatne tvari (Senjković, 1994).

Prašci su čvrsti pripravci za vanjsku (ili unutarnju) upotrebu koji se sastoje od jedne ili više komponenti u suhom, fino usitnjenom stanju. To su disperzijski sustavi čvrsto u plinovitom s vrlo visokim udjelom disperzne faze, tako da se čestice čvrste tvari (veličine od 10 do 100 μm) međusobno dotiču. Ovisno o obliku, čestice se dotiču bridovima ili površinama, zajedno se drže zbog kohezije ili elektrostatskog naboja, a zbog zračnih slojeva veze su vrlo slabe pa su čestice ipak pokretne (Senjković, 1994).

Flasteri su savitljivi pripravci koji sadrže jednu ili više djelatnih tvari, a namijenjeni su za primjenu na kožu. Dizajnirani su tako da zadržavaju djelatnu tvar u kontaktu s kožom i na taj način postižu lokalni učinak. Flasteri za kožu sastoje se od prijanjajuće podloge koja sadrži djelatnu tvar raspoređenu u jedinstvenom sloju na odgovarajućem nosaču načinjenom od prirodnih ili sintetskih materijala. Prijanjajući sloj prekriven je zaštitnim slojem koji se odstranjuje prije primjene flastera na kožu. Nakon što se nježno pritisnu, flasteri čvrsto prijanjaju na kožu i mogu se jednostavno odstraniti bez uzrokovanja oštećenja kože ili odvajanja lijeka od vanjskog, potpornog sloja (Ph.Eur. 9.4).

3.4. Pravilna primjena dermalnog pripravka

Pravilna primjena dermalnog pripravka značajno utječe na njegovu učinkovitost. Sami odabir odgovarajućeg dermalnog pripravka nije dovoljan kako bi se postigao njegov maksimalni učinak. Sama uporaba dermalnog pripravka pa čak i redoslijed nanošenja dermalnih pripravaka može imati veliki utjecaj na njegovu djelotvornost.

Kao što je poznato, da bi pripravak bio učinkovit mora se primijeniti u točnoj dozi/koncentraciji na oboljelo mjesto u određenim vremenskim razmacima.

Kod primjene dermalnih pripravaka treba se držati savjeta navedenih u uputi o lijeku/pripravku osim ako liječnik nije savjetovao drugačije. Što znači da kod primjene trebamo voditi brigu o debljini premaza pripravka, tehnici primjene pripravka i učestalosti primjene.

Primjer 1. Doziranja Plimycol 10 mg/g kreme: Kremu treba dva puta dnevno, ujutro i navečer, u tankom sloju nanijeti na zahvaćenu kožu i utrljati. Posebno je važno kremu primjenjivati dovoljno dugo jer liječenje ovisi o mjestu i proširenosti infekcije (Uputa o lijeku Plimycol 10 mg/g krema Pliva Hrvatska d.o.o. 2011.).

Primjer 2. Doziranje i način primjene EMLA kreme indicirane za:

- topikalnu anesteziju kože kod:
 - uvođenja igle, primjerice intavenskog katetera ili za uzimanje uzoraka krvi;
 - površinskih kirurških zahvata; kod odraslih i u pedijatrijskoj populaciji.
- topikalnu anesteziju genitalne sluznice, primjerice prije površinskih kirurških zahvata ili infiltracijske anestezije; kod odraslih i adolescenata u dobi od ≥ 12 godina.
- topikalnu anesteziju ulkusa na nogama kako bi se omogućilo mehaničko čišćenje/debridman samo kod odraslih.

Doziranje: Odrasli i adolescenti.

Tablica 3. Doziranje i način primjene EMLA kreme

Indikacija/Postupak	Doza i vrijeme primjene
Koža	
Manji postupci, npr. uvođenje igle i kirurško liječenje lokaliziranih lezija	2 g (približno pola tube od 5 g) ili približno 1,5 g/10 cm ² tijekom 1 do 5 sati ¹⁾
Dermatološki postupci na svježe obrijanoj koži na velikim područjima tijela, npr. lasersko uklanjanje dlaka (samoprimjena od strane bolesnika)	Najveća preporučena doza: 60 g. Najveće preporučeno područje primjene: 600 cm ² tijekom najmanje 1 sata, a najviše 5 sati ¹⁾
Dermatološki kirurški postupci na većim	Približno 1,5 – 2 g/cm ² tijekom 2 do 5 sati ¹⁾

područjima u bolničkom okruženju, npr. presađivanje kože u djelomičnoj debljini	
Koža na muškim spolnim organima Prije injekcije lokalnih anestetika	1 g/10 cm ² tijekom 15 minuta
Koža na ženskim spolnim organima Prije injekcije lokalnih anestetika	1-2 g/10 cm ² tijekom 60 minuta
Genitalna sluznica	
Kirurško liječenje lokaliziranih lezija, npr. odstranjivanje genitalnih bradavica (condylomata acuminata) i prije injekcije lokalnih anestetika	Približno 5-10 g kreme tijekom 5-10 minuta ^{1) 3) 4)}
Prije kiretaže cerviksa	10 g kreme primjenjuje se u lateralne dijelove vaginalnog svoda tijekom 10 minuta
Ulkus(i) na nogama	
<u>Samo kod odraslih</u> Mehaničko čišćenje/debridman	Približno 1-2 g/10cm ² do ukupno 10 g na ulkuse na nozi ^{3) 5)} Vrijeme primjene: 30-60 minuta
¹⁾ Nakon duljeg trajanja primjene anestezija se smanjuje. ²⁾ Na koži ženskih spolnih organa primjena samo EMLA kreme tijekom 60 ili 90 minuta ne pruža dodatnu anesteziju za termokauterizaciju ili dijatermiju genitalnih bradavica ³⁾ nisu mjerene koncentracije u plazmi bolesnika liječenih dozama >10 g (vidjeti i dio 5.2). ⁴⁾ Kod adolescenata tjelesne težine manje od 20 kg potrebno je proporcionalno smanjiti najveću dozu lijeka EMLA na genitalnoj sluznici. ⁵⁾ EMLA je primijenjena za liječenje ulkusa na nogama do 15 puta u razdoblju od 1 do 2 mjeseca bez gubitka djelotvornosti ili povećanja broja i težine nuspojava.	

Tablica 4. Pedijatrijski bolesnici u dobi 0-11 godina

Dobna skupina	Postupak	Doza i vrijeme primjene
	Manji postupci, npr. Uvođenje igle i kirurško liječenje lokaliziranih lezija.	Približno 1 g/10 cm ² tijekom Jednog sata (vidjeti pojedinosti u nastavku)
Novorođenčad i dojenčad od 0-2 mjeseca ^{1) 2) 3)}		Do 1 g i 10 cm ² tijekom jednog Sata ⁴⁾
Dojenčad od 3-11 mjeseci ²⁾		Do 2 g i 20 cm ² tijekom jednog sata ⁵⁾
Mala djeca i djeca od 1-5 godina		Do 10 g i 100 cm ² tijekom 1-5 sati ⁶⁾
Djeca od 6-11 godina		Do 20 g i 200 cm ² tijekom 1-5 sati ⁶⁾
Pedijatrijski bolesnici s atopijskim dermatitisom	Prije odstranjivanja moluska	Vrijeme primjene: 30 minuta

Način primjene:

Na kožu: Zaštitna opna tube probija se tako da se na nju natakne zatvarač. Jedan gram EMLA kreme istisnute iz tube od 30 g dug je približno 3,5 cm. Ako je potrebna visoka preciznost doziranja kako bi se spriječilo predoziranje (npr. kod doza blizu maksimalnih kod novorođenčadi ili ako bi mogle biti potrebne dvije primjene unutar 24 sata), može se upotrijebiti štrcaljka gdje je 1 ml = 1 g.

Debeli sloj EMLA kreme treba nanijeti na kožu, uključujući i kožu na genitalijama, pod okluzivnim oblogom. Kod primjene na većim područjima, kao kod presađivanja kože u djelomičnoj debljini, povrh okluzivnog obloga treba staviti elastični zavoj kako bi se krema ravnomjerno rasporedila i područje zaštitilo. U slučaju atopijskog dermatitisa potrebno je skratiti vrijeme primjene.

Kod postupaka na genitalnoj sluznici nije potreban okluzivni oblog. Postupak treba započeti odmah nakon uklanjanja kreme.

Kod postupaka povezanih s ulkusima na nogama, nanosi se debeli sloj EMLA kreme pod okluzivnim oblogom. Čišćenje treba započeti bez odlaganja nakon uklanjanja kreme (Upute o lijeku EMLA krema).

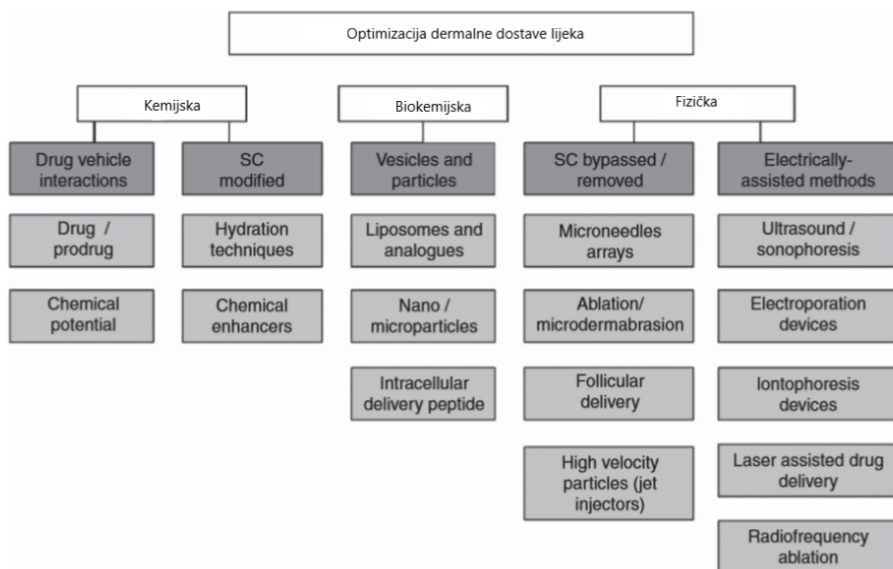
Primjer 3. Kreme za zaštitu od sunčevog zračenja- kako bismo dobili najveću učinkovitost krema za zaštitu od sunčevog zračenja trebamo ih nanijeti barem 15 minuta prije izlaganja sunčevom zračenju u ravnomjernom sloju.

3.5 Optimizacija dermalne dostave lijeka

Do učinaka dermalnog pripravka dolazi samo ako je djelatna tvar isporučena u terapijskoj dozi na točno željeno mjesto djelovanja u odgovarajućem vremenu. Kako bismo osigurali željenu dostavu lijeka potrebno je optimizirati njegovu dermalnu dostavu.

Unatoč mnogim učincima podloge na penetraciju aktivne tvari kroz kožu postoje generalne smjernice za povećanje fluksa djelatne tvari kroz kožu. Poznato je da se fluks može optimizirati na sljedeće načine:

- Maksimalna termodinamička aktivnost permeanta u podlozi
- Supersaturacija
- Dodatak pojačivača prijenosa aktivne tvari koji mogu povećati solubilnost permeanta u koži ili pojačati difuziju u koži.
- Razvojem nanosustava za dostavu u dublje slojeve kože (biofarmaceutski pristup) - uključuje nanočestice, liposome, mikrosfere i druge nanosustave.
- Fizičkim metodama poboljšanja permeabilnosti.



Slika 14. Metode optimizacije dermalne dostave lijeka (prilagođeno prema Thanh-Nga i Tran, 2013).

3.5.1 Termodinamička aktivnost

Termodinamička aktivnost opisuje tendenciju prelaska lijeka iz podloge u kožu i ona opisuje stvarnu jačinu difuzije. Dokazano je da ako nema interakcije između kože i podloge fluks djelatne tvari je isti kod različitih zasićenih podloga iako su koncentracije permeanta značajno varirale (Otto i sur., 2009.). Termodinamička aktivnost permeanta je maksimalna kada je koncentracija permeanta u podlozi zasićena. Kod podzasićene koncentracije permeanta termodinamička aktivnost je reducirana i ovisi o koncentracijskom gradijentu i koeficijentu aktivnosti permeanta. Korelacija između termodinamijske aktivnosti i koncentracije dana je jednadžbom:

$$a_v = \gamma_v c_v$$

Gdje je a_v termodinamička aktivnost, γ_v koeficijent aktivnosti i c_v koncentracija permeanta u podlozi (Higuchi, 1960.).

Topljivost je ključni faktor za određivanje termodinamičke aktivnosti. Usporedimo li dvije nezasićene podloge koje sadrže jednaku koncentraciju djelatne tvari, termodinamička aktivnost veća je u podlozi u kojoj je djelatna tvar slabije topljiva. Ako je poznato kakva je topljivost djelatne tvari u podlozi, termodinamička aktivnost može se predvidjeti iz omjera koncentracije i topljivosti djelatne tvari. Međutim, korištenje koeficijenta topljivosti u postupku odabira podloge koja je prikladna za određenu djelatnu tvar samo je prvi korak (Dias, 2007).

3.5.2 Prezasićenost

Prezasićenost (engl. supersaturation) je pristup optimiziranju dermalne dostave, bez utjecaja na barijerna svojstva kože. Kod prezasićenih podloga termodinamička aktivnost i protok povećavaju se povećanjem stupnja zasićenosti. Nedostatak prezasićenih podloga je termodinamička nestabilnost do koje dolazi zbog rekristalizacije djelatne tvari, čime se gubi permeabilnost. Prema tome, pohrana takvih oblika na duži period može biti kritična, pa se savjetuje da se

prezasićeni sustavi formiraju na mjestu djelovanja (*in situ*) ili prije primjene na kožu (Moser i sur., 2001). Dodatak sredstva za sprečavanje nukleacije (engl. anti-nucleating agents) sprečava rekristalizaciju djelatne tvari i stabilizira prezasićene podloge. Neki od tih polimera su hidroksipropilmetilceluloza, karboksimetilceluloza i polivinilpirolidon (Davis, 1991).

3.5.3 Kemijski pojačivači apsorpcije

Korištenje kemijskih pospješivača transdermalne apsorpcije je najviše istraženo. Riječ je o tvarima koje mogu reverzibilno smanjiti barijernu funkciju kože i posljedično omogućiti ulazak slabo penetrirajućih molekula u sistemsku cirkulaciju. U tu svrhu upotrebljavaju se alkoholi, polioli, pirolidoni, amini, amidi, masne kiseline, sulfoksidi, esteri, terpeni, alkani, surfaktanti i fosfolipidi, propilen glikol, metil laurat, etil oleat, karvon, laurinska kiselina, oleinska kiselina, N-metil-pirolidinon, azon, izopropilmiristat. Njihova strukturna raznovrsnost ukazuje da je za poboljšanu transdermalnu apsorpciju zaslužno više različitih mehanizama (Naik i sur., 2000). Najčešće, mehanizam poboljšavanja transdermalne apsorpcije se temelji na promjeni lipidne strukture (promjena koeficijenta difuznosti D) i promjeni topljivosti lijeka u rožnatom sloju (promjena koeficijenta razdjeljenja lijeka između kože i formulacije) (Hadgraft, 2004.).

Kemijski pojačivači povećavaju permeabilnost kože na nekoliko načina: (i) remete organizaciju lipida SC-a (npr. terpeni, masne kiseline, alkoholi); (ii) ekstrahiraju lipide i formiraju vodene kanale (npr. etanol, DMSO); (iii) ulaze u interakcije sa keratinom u korneocitima (npr. ionske površinski aktivne tvari).

3.5.4 Fizičke metode poboljšavanja dermalne apsorpcije lijeka

Fizičke metode poboljšanja permeabilnosti uključuju: (i) korištenje vanjske sile, kao što je zvuk visoke frekvencije u ultrazvuku sonoforeza ili električni valovi u iontoforezi; (ii) fizičko remećenje SC-s korištenjem mikroigala; (iii) lasersku terapiju; (iv) kemijsko uklanjanje folikula dlaka (Thanh-Nga, 2013).

Najrazvijenija od ovih tehnologija, **iontoforeza**, koristi električne struje niske jakosti kako bi olakšala transport lijeka kroz kožu (Naik i sur., 2000). Elektrorepulzivni učinak nastaje uslijed odbijanja nabijenih molekula od elektrode istovrsnog naboja, što pridonosi njihovoj transkutanoj apsorpciji (Wolff, 2014). Uspješnost iontoforeze ovisi o polarnosti, valenciji i ionskoj mobilnosti lijeka, kao i o transdermalnoj formulaciji. Najčešće, 2 elektrode od kojih jedna sadržava ionizirani lijek iste polarnosti (kationski lijek i anoda) su smještene na površinu kože i spojene na konstantan izvor istosmjerne struje. Jakost struje određuje količinu naboja koji se nalazi u krugu, a posljedično i količinu iona koji prolaze kroz kožu. Iontoforeza je kontrolirana i učinkovita metoda transdermalne dostave lijeka, pri čemu je količina dostavljenog lijeka direktno proporcionalna količini naboja (Naik i sur., 2000).

Anodna dostava malih kationa se preferira jer koža pri fiziološkoj pH-vrijednosti nosi negativni naboj što je čini trajno-selektivnom za pozitivne ione pri uspostavi elektičnog polja. Preferirani transport malih kationa inducira kretanje otapala u smjeru kretanja kationa (od anode prema katodi) pri čemu se ioni sudaraju s otapalom. Uspostavljeni elektroosmotski tok omogućava olakšani transport neutralnih (i pozitivno nabijenih) molekula koje su doslovno nošene od anode do katode. Za pozitivno nabijene lijekove, doprinos elektroosmoze (uz usporedbu s klasičnim elektrorepulzivnim učinkom) postaje višestruko značajan s povećavanjem molekulske mase. Smatra se predominantnim mehanizmom iontoferetskog transporta za peptide i male proteine (Naik i sur., 2000). Promjena naboja na koži (pri promjeni pH formulacije) ima potencijal

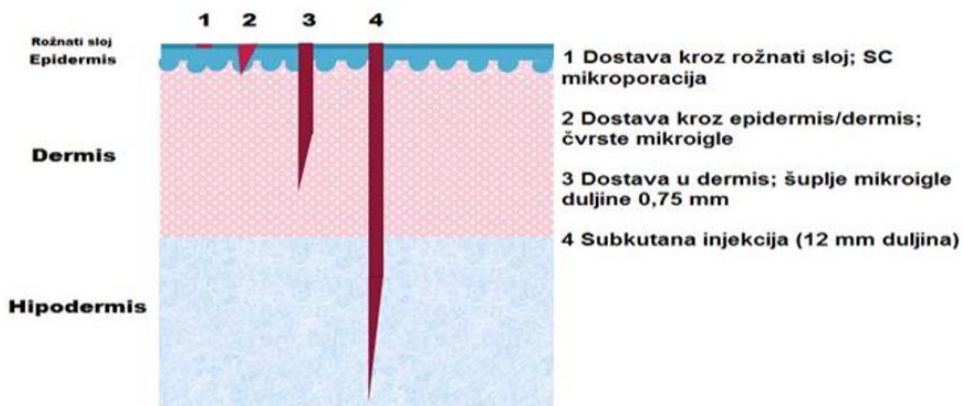
promjene balansa doprinosa elektorepulzivnog i elektroosmotskog iontoferetskog kretanja. Na primjer, kada bi koža bila pozitivno nabijena postala bi trajno-selektivna za anione i inducirala bi kretanje otapala u smjeru aniona (od katode prema anodi), dok koža bez naboja ne bi uzrokovala kretanje otapala. pH-vrijednost formulacije ima ključnu ulogu u učinkovitosti dostave iontoforezom jer ne utječe samo na trajnu-selektivost kože, nego utječe i na naboj lijeka koji određuje njegovu mobilnost. Osim optimizacije pH-vrijednosti formulacije, bitno je ograničiti transport elektrolita, potrebnog za funkcioniranje elektroforetskog uređaja, kroz kožu (Naik i sur., 2000). Prednost iontoforetske dostave lijeka pred pasivnom dostavom su u preciznost doziranja i pulsnoj dostavi lijeka koja simulira endogeno lučenje te smanjuje neželjene posljedice terapije (npr. tolerancija). Iontoforetski uređaj dostavlja molekule umjerene veličine (do 7 kDa), ionizirane i polarne (Naik i sur., 2000).

Elektroporacija koristi kratke, visokovoltažne pulseve koji čine kožu permeabilnijom, uzrokujući stvaranje vodenih prolaza u lipidnoj membrani. Ova metoda koristeći visokonaponske pulseve generira transdermalni potencijal od 1 kV koji traje 10 μ s 500 ms. Pokazala se uspješnijom (najmanje jednako dobrom) od iontoforeze za dermalnu apsorpciju nekoliko molekula in vitro, a u usporedbi s pasivnom difuzijom uočen je značajno veći transport lijeka (Naik i sur., 2000).

Sonoforeza je korištenje ultrazvuka, definiranog kao zvuk frekvencije veće od 20 kHz, kako bi se narušila barijerna funkcija i omogućila transdermalna apsorpcija lijeka. Ultrazvučna tehnologija se koristi u fizikalnoj terapiji i dijagnostici, a istraživanja su pokazala da korištenje frekvencija od 20 kHz do 10 MHz s intenzitetom od 3 W cm⁻² značajno povećava transdermalnu dostavu. Frekvencija od 20 kHz je do 1000 puta učinkovitija od 10 MHz, dakle uporaba manjih frekvencija je učinkovitija. Sonoforeza povećava dostavu lijeka kombinacijom termalnog, kemijskog i mehaničkog djelovanja na kožu. Osim što povećava temperaturu kože, sonoforeza stvara plinovite džepove unutar stanica (kavitacija), povećava pore i izmjenjuje strukturu međustaničnih lipida te bi mogla uzrokovati i citotoksičnost. Kavitacija je dominantni

mehanizam kojim male frekvencije ultrazvuka povećavaju propusnost kože i povećavaju transdermalni transport polarnih makromolekula kao što su inzulin (6kDa), interferon- γ (17kDa) i eritropoetin (48kDa) u in vitro uvjetima (Naik i sur., 2000.).

Mikroporaciju kože uzrokuju i kratke **mikroigle** ili šuplje kanile, koje penetriraju kroz rožnati sloj i epidermis do gornjeg dermisa ne dodirujući receptore za bol. Ova tehnika uzrokuje minimalno invazivno i bezbolno smanjenje kožne barijerne funkcije (Wolff, 2014). Postoje različiti tipovi mikroigala i principi djelovanja. Čvrste mikroigle se mogu koristiti za bušenje kože prije stavljanja formulacije s lijekom na kožu ili mogu biti premazane lijekom prije umetanja u kožu, a nakon micanja flastera s mikroiglama lijek ostaje u koži. Ako su mikroigle načinjene od topljivih šećera i biorazgradivnih polimera u kojima se nalazi lijek, one ostaju u koži zajedno s lijekom i samo se njihov nosač miče s kože. Konačno, otopina lijeka se može injektirati u kožu šupljim mikroiglama (Wolff, 2014).



Slika 15. Dubina penetracije mikroigala u usporedbi sa supkutanom injekcijom (prilagođeno prema Tokić, 2015).

Mikropore slične veličine mogu se dobiti koristeći lasersku tehniku, koja ne zahtjeva uporabu mehaničke sile i zaobilazi efekt elastičnosti kože koji pruža rezistenciju inserciji mikroigala. Ograničenja ove metode su raspršenje topline na okolna tkiva koje mora biti minimalizirano

korištenjem kratkih laserskih pulseva i kontrola dubine penetracije (Wolff, 2014.). Još neke aktivne i minimalno invazivne tehnike su radiofrekvencijska ablacija koja korištenjem struje frekvencije iznad 100 kHz stvara toplinu i dovodi do ablacije stanica i stvaranja mikrokanala (teriparatid, inzulin) i termalna ablacija koja korištenjem kratkih toplinskih pulseva stvara mikrokanale u rožnatom sloju (inzulin) (Lipp, 2014.).

3.5.5 Upotreba prolijekova

Za uspješan dizajna prolijekova treba obratiti pažnju na više činbenika kao što su permeacija kroz kožu, kemijska i enzimatska stabilnost kao i na mogućnost iritacije kože. Glavni razlog korištenja prolijekova je modifikacija fizikalno-kemijskih svojstava matičnog lijeka tako da je fluks prolijeke povećan u odnosu na fluks matičnog lijeka. U većinu slučajeva kada barijeru difuziji predstavljaju lipidne komponente rožnatog sloja a matični je lijek relativno hidrofilan, povećanjem njegove lipofilnosti u obliku prolijeke možemo postići povećanje njegovog fluksa. Takav oblik prolijeke će biti veći od matičnog lijeka što može utjecati na dermalnu apsorpciju. Trenutno se u kliničkim studijama ispituju slijedeći prolijekovi: ketorolak piperazinilalkil prolijeke (Qandil i sur., 2008), pilot klinička studija s prolijekom levodope (Kushnir i sur. 2008), utjecaj PEG na transdermalni fluks acetaminofena (Thomasi sur., 2009), naltrekson prolijeke (Vaddi i sur., 2009) i bupropion prolijeke (Kiptoo i sur., 2009).

3.5.6 Biofarmaceutski pristup optimizacije dostave lijeka - nanosustavi za dostavu lijeka u dublje slojeve kože

Glavna prepreka za dostavu lijekova koji se primjenjuju na kožu je SC kroz koji može proći samo mali postotak primijenjenog lijeka. U svrhu prevladavanja niskog stupnja unosa djelatne tvari razvijaju se nanosustavi za dermalnu primjenu lijeka. Osim što povećavaju apsorpciju lijeka u

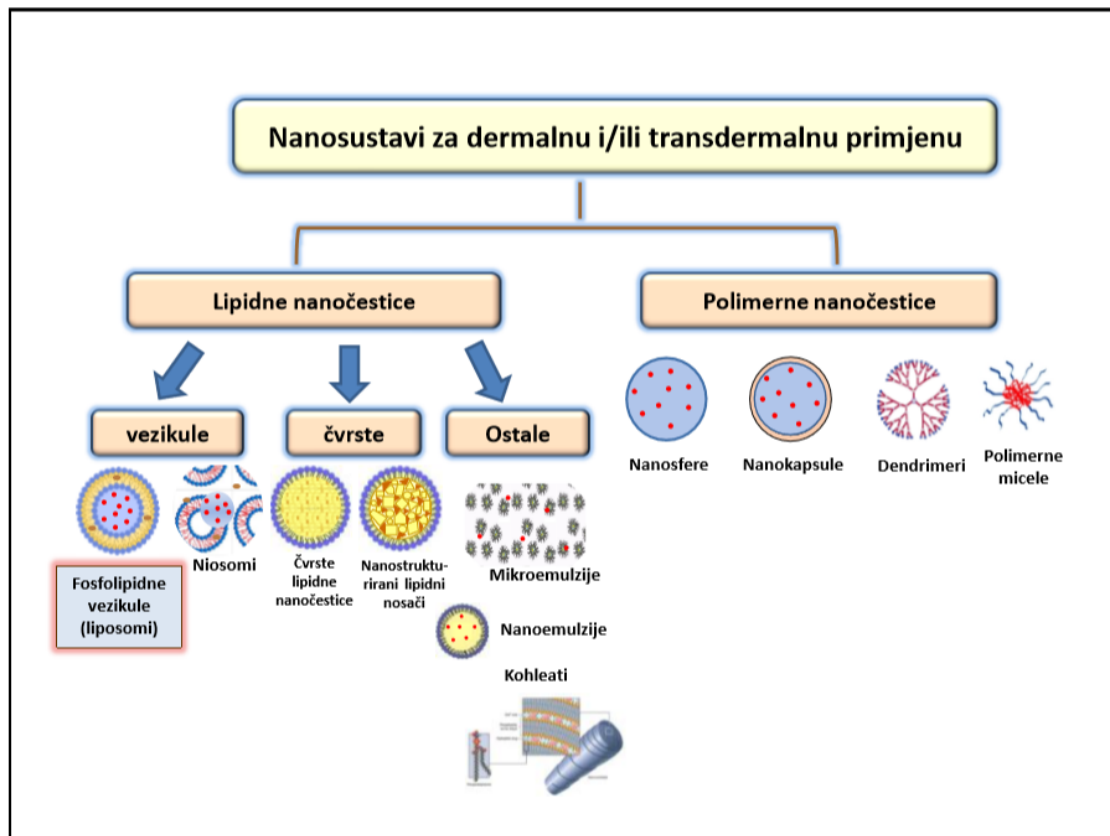
kožu, nanočestice omogućavaju primjenu lijeka u različite slojeve kože (epidermis, dermis, hipodermis). U postupku razvoja nanoterapeutika, nanotehnologija se koristi kako bi se povećala topljivost djelatne tvari, kako bi se djelatna tvar što preciznije dostavila do željenog mjesta djelovanja, kako bi se kontroliralo oslobađanje djelatne tvari, te kako bi se poboljšao transport kroz biološke membrane i kako bi se smanjile nuspojave lijekova.

Nadalje, u takvim sustavima djelatna tvar je uklopljena i na taj način zaštićena od prijevremene razgradnje (Zhang i sur., 2010). Jedan od načina optimiziranja lokalne isporuke lijeka na kožu je primjena određenih nosača kao što su liposomi, mikro i nanoemulzije, te anorganske, lipidne i polimerne nanočestice (slika 17).

Polimerne nanočestice

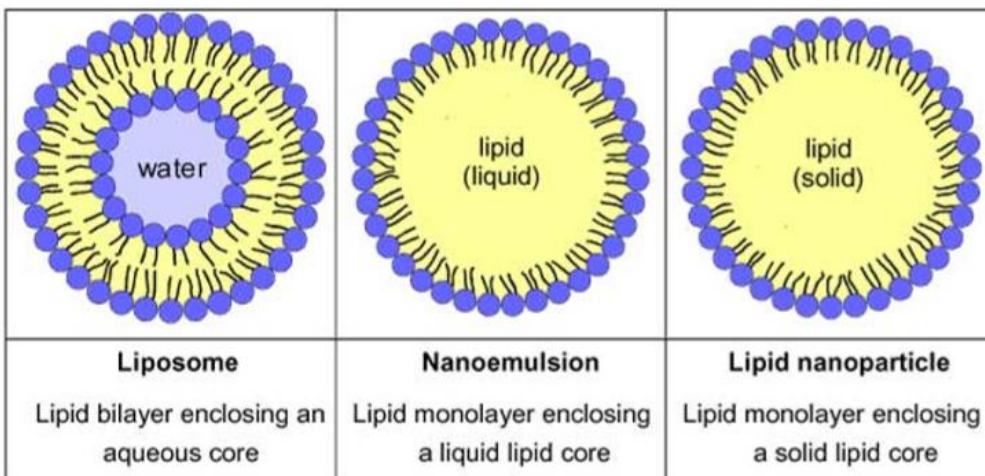
Polimerne nanočestice mogu se klasificirati kao nanosfere (matriksni sustavi) i nanokapsule (spremišni sustavi koji se sastoje od uljne jezgre). Polimerne nanokapsule su vezikularne čestice veličine manje od 1 μm , koje se sastoje od uljne jezgre okružene ultratankom polimernom ovojnicom koja je stabilizirana s površinski aktivnim tvarima i/ili steričkim stabilizatorima (Nasir, 2010). Difuzija djelatne tvari iz uljne jezgre ovisi o karakteristikama polimerne ovojnice. Tako npr. polimerne ovojnice osjetljive na temperaturu, ispod kritične temperature, uklapaju djelatnu tvar, dok iznad kritične temperature dolazi do otapanja ovojnice i oslobađanja djelatne tvari. Takve polimerne ovojnice se koriste za dostavu lijeka na mjestu upale, kao kod lokalizirane psorijaze, gdje se metotreksat kao djelatna tvar uklapa u polimerne ovojnice osjetljive na temperaturu (Nasir, 2010). Polimerne nanokapsule imaju veći kapacitet uklapanja djelatne tvari, dok su polimerne nanosfere matriksni sustavi s nižim kapacitetom uklapanja. Polimerne nanočestice kontrolirano oslobađaju uklopljenu djelatnu tvar, koja prvo mora difundirati kroz polimerni matriks da bi prodrijele kroz kožu. One su strukturno stabilne, zahvaljujući svom krutom matriksu, te su u mogućnosti da zadrže svoju strukturu kroz duži vremenski period nakon što se lokalno primjene na kožu (Lboutounne i sur., 2004). U posljednjih nekoliko godina sve je istaknutija primjena spojeva uklopljenih u polimerne ovojnice u farmaceutske i kozmetičke svrhe.

Tako se danas sve češće primjenjuju uklopljeni proteini i peptidi u liječenju raka, zaraznih bolesti, autoimunih bolesti, kod sindroma stečene imunodeficiencije te protiv starenja. Većina polimernih nanočestica se zadržava u rožnatom sloju, a time se poboljšava oslobađanje lijeka kroz kožu, koje ovisi o apsorpcijskim karakteristikama lijeka, kao i o svojstvima mehanizma oslobađanja lijeka.



Slika 16. Shematski prikaz novih terapijskih sustava za primjenu na koži (prilagođeno prema Zhang i sur., 2010).

Lipidne nanočestice



Slika 17. Shematski prikaz struktura lipidnih nanosustava (prilagođeno prema Okoro i sur., 2014).

Čvrste lipidne nanočestice (eng. Solid lipid nanocarriers, SLN) i **nanostrukturirani lipidni nosači** (eng. Nanostructured lipid carriers, NLC) su glavni predstavnici lipidnih nanočestica matriksnog tipa. SLN su sferičnog oblika, promjera u rasponu od 10 nm do 1000 nm. Čvrste lipidne nanočestice sadrže krutu lipidnu jezgru u kojoj se mogu otopiti lipofilne molekule. Čvrsta lipidna jezgra se stabilizira površinski aktivnim tvarima. Lipidne nanočestice su najčešći tip nanočestica koji se istražuju kao suvremeni nosači za topikalnu primjenu lijekova na kožu (Küchler i sur., 2009), zbog povoljnih karakteristika poput dobrih okluzivnih svojstva, povećanja hidratacije kože, mogućnosti za kontroliranim oslobađanje djelatne tvari, veće penetracije u kožu, ciljanim djelovanjem i izbjegavanjem sistemske apsorpcije i posljedično nuspojava (Dubey i sur., 2007). Za razliku od polimernih nanočestica, lipidne nanočestice su manje stabilne primjenom na površinu kože. Zabilježeno je da čvrste lipidne nanočestice, nakon lokalne primjene gube svoj prvobitni oblik i otapaju se u periodu od 2 sata, zbog interakcija između lipidnih nanočestica i lipida kože. Te interakcije dovode do smanjenja barijerne funkcije kože i do

povećanja penetracije lijeka u kožu. Prema tome, djelatne tvari koje su uklopljene u različite tipove lipidnih nanočestica (matriksni i spremišni tip), odlikuju se većom penetracijom kroz kožu od konvencionalnih oblika. Nadalje, dodavanjem drugih sastojaka kao što je etanol i magnetskih nanočestica, čvrstim lipidnim nanočesticama može se dodatno povećati penetracija kroz kožu. Zbog svoje specifične veličine i svojstava ovisnih o sastavu, lipidne nanočestice mogu prodrijeti kroz nekoliko anatomskih barijera osiguravajući kontrolirano oslobađanje djelatne tvari (Wissing i sur., 2004).

Mikroemulzije su koloidni, optički izotropni, transparentni ili blago opalescentni disperzni sustavi male viskoznosti. Sastoje se od surfaktanta, kosurfaktanta, ulja i vode. Termodinamički su stabilne koloidne disperzije oblikovane bez primjene energije. Ovisno o primijenjenom surfaktantu postoje mikroemulzije različitih mikrostrukture. Mikroemulzija može sadržavati kapljice vode u ulju (tipa V/U) ili kapljice ulja u vodi (tipa U/V) promjera od 20-100 nm. U mikroemulzijama amfifilne molekule surfaktanta potpuno oblažu kapljice disperzne faze, pa disperzna i kontinuirana faza nisu u izravnom kontaktu. Mikroemulzije imaju značajne prednosti: jednostavnost primjene, dugotrajna stabilnost, velika sposobnost otapanja hidrofilnih i lipofilnih aktivnih tvari te posljedično njihov olakšan prijenos. Mikroemulzije imaju brojne prednosti u dermalnom i transdermalnom prijenosu aktivnih tvari. Otapaju teško topljive tvari; koristeći lipofilne koloidne faze značajno utječu na penetraciju iznimno lipofilnih aktivnih tvari i pojačavaju njihove učinke. Glavni problem u njihovu oblikovanju predstavlja potreba za velikom količinom surfaktanta. Mogućnost upotrebe takvih koloidnih nosača u budućnosti ovisi o izboru surfaktanta koji se dobro podnose i smanjenju njihove količine. Izazov predstavlja i upotreba mikroemulzija za hidrofilne tvari, kao što su peptidi, proteini, RNA i DNA derivati, u njihovom dermalnom i transdermalnom prijenosu (Neubert, 2011).

Glavni razlog razvoja **nanoemulzija** je poboljšanje prijenosa aktivnih tvari u kožu. Nanoemulzije se sastoje od biljnih, sintetskih ili polusintetskih ulja koja su često stabilizirana fosfolipidima kao

surfaktantima. Fosfolipidi su endogene tvari kože i često se koriste kao pojačivači dermalne apsorpcije zbog svoje velike biokompatibilnosti. Uklapanjem kosurfaktanata može se poboljšati permeacija/zadržavanje tvari kroz kožu. Tako na primjer, pozitivno nabijeni surfaktanti mogu djelovati na permeaciju/zadržavanje aktivnih tvari zbog smanjenja interakcija s epitelnim stanicama koje imaju negativan naboj na vanjskoj strani membrane (Argenta i sur., 2014).

U današnje vrijeme najčešći nanosustav s uklopljenim kozmeceutikom su **liposomi**. Većina komercijalno dostupnih liposoma za kozmetičku primjenu su proizvedeni od lecitina, smjese fosfolipida i triglicerida koji su izolirani iz zrna soje. Mali fleksibilni liposomi korišteni su za prijenos tvari u dublje slojeve kože, a rigidni liposomi služe kao depo tvari u gornjim slojevima kože pošto ne prodiru kroz kožu. Stručnjaci procjenjuju da nekoliko stotina kozmetičkih proizvoda sadrži liposome na tržištu. Ovisno o vrsti fosfolipida i metodama pripreme liposomi su građeni iz jednog (unilamelarni: mali 20-100 nm, srednji 100-500 nm, veliki >1000 nm) ili više slojeva (multilamelarni:100nm). U liposome su uklapani različiti kozmeceutici, npr. vazodilatatori, vitamini, antioksidansi, biljni ekstrakti, UV filteri, aminokiseline, peptidi i proteini. „Prazni“ liposomi vrlo su učinkoviti pri vlaženju kože jer sadrže relativno velik udjel vode unutar vodenog odjeljka liposoma. Liposomi su najčešće korištene vezikule nanometarskih dimenzija za dermalnu primjenu.

Prednosti liposoma su njihova netoksičnost, neimunogenost i biorazgradivost. Uklapanjem hidrofobnih tvari u liposome povećava se topljivost i/ili stabilnost takvih tvari te njihov produljeni učinak. Posebno ističemo učinak liposoma na poboljšanje penetracije i zadržavanja aktivnih tvari na površini ili u pojedinim slojevima kože. Naime, fosfolipidni dvosloj pridonosi međudjelovanju liposoma s lipidnim površinskim slojem kože. Fuzijom liposoma s membranama stanica oslobađa se uklopljeni kozmeceutik.

Etosomi i transferosomi prilagođeni su liposomi izađeni u posljednje vrijeme s ciljem daljnjeg poboljšanja prijenosa kozmeceutika do određenih slojeva kože. Transferomi su elastičniji u

odnosu na liposome pa učinkovitije prolaze barijeru kože. Etosomi su modificirani relativno visokim udjelom etanola pri pripravi. Prilično su deformabilni i strukturni raspored lipida rožnatog sloja kože omogućava im prolazak u dublje slojeve kože.

Nedostatak liposoma je njihova fizička i/ili kemijska nestabilnost. Uz kapljice uljne faze emulzije i/ili površinski aktivne tvari liposomi su skloni agregaciji liposomi-liposomi i/ili liposomi-površinski aktivne tvari. Broj liposoma u U/V emulziji smanjuje se pri skladištenju zbog agregacije liposoma. Fizičku stabilnost liposoma moguće je povećati oblaganjem liposoma polietilenglikolom. Oksidacija i hidroliza fosfolipida glavni su uzroci kemijske nestabilnosti liposoma. Dodatak antioksidansa sprječava oksidaciju fosfolipida, dok prilagođavanje pH oblika od 6 do 7 sprječava hidrolizu fosfolipida (Pepić i sur., 2012).

4. RASPRAVA

Topikalno primijenjeni lijekovi mogu imati lokalni, regionalnim ili sistemski učinak što ovisi o mjestu dostave djelatne tvari.

Koža duuguje zaštitnu funkciju rožnatom sloju koji je ujedno i ključni faktor u permeabilnosti kože.

Većina klasičnih lijekova ne pokazuje zadovoljavajuću permeaciju kroz kožu što je rezultiralo razvojem inovativnih sustava za dostavu djelatne tvari na željeno mjesto djelovanja. Primjerice, razvijaju se mikroemulzije, čvrste lipidne nanočestice i nanostrukturirani lipidni nosači što je omogućilo uklapanje većih doza djelatne tvari i veću stabilnost lijeka. Mogućnosti ovakvih nosača da poboljšaju permeaciju djelatne tvari kroz kožu i da postignu "targetiranje" šireg spektra djelatnih tvari ovisi o sastavu podloge kao i o fizikalno-kemijskim svojstvima djelatne tvari.

Utjecaj podloge na absorpciju djelatne tvari je vrlo složen jer ovisi o fizikalno-kemijskim interakcijama između podloge i djelatne tvari te o interakcijama podloge s površinom kože. Dakako, prethodno svim ovim interakcijama značajan činbenik dostave djelatne tvari u kožu su fizikalno-kemijska svojstva same djelatne tvari a to su: veličina molekule, polarnost i lipofilnost. Male, nepolarne i umjereno lipofilne molekule najbolje prolaze kroz kožu dok vrlo polarne hidrofilne molekule teško prolaze. Utjecaj klasičnih podloga na prolaz ova dva tipa molekula djelatne tvari je ograničen. Utjecaj podloge na oslobađanje i prijenos djelatne tvari se postiže tako da se postigne koncentracija djelatne tvari blizu granice njene topljivosti u danoj podlozi čime se postiže povećanje u termodinamičkom potencijalu i bolja difuzija iz podloge u kožu. Podloga može utjecati na barijernu funkciju kože povećanom hidratacijom kože i time pridonositi prijenosu djelatne tvari iz pripravka u različite slojeve kože. Sastavni djelovi podloge utječu na hidrataciju i permeabilnost kože. Lipidne baze (parafini, ulja, esteri, silikoni..) sprečavaju gubitak

vode te snažno povećavaju permeabilnost kože. Absorpcijske baze (bezvodni lipidni materijali s W/O emulgatorima i bezvodni lipidni materijali s O/W emulgatorima) sprečavaju gubitak vode, povećavaju hidrataciju te snažno povećavaju permeabilnost kože.

U/V sustavi (kreme i emulzije) mogu dostavljati vodu u kožu ali imaju mali utjecaj na hidrataciju i permeabilnost kože.

V/U sustavi (kreme i emulzije) reduciraju gubitak vode kroz kožu i povećavaju hidrataciju i permeabilnost kože.

Humektansi (glicerol, glikoli, baze topive u vodi) mogu ukloniti vodu iz kože te smanjiti hidrataciju i permeabilnost kože.

Prašci (bentonit, karbonati ..) podupiru dostavu vode te imaju minimalni učinak na rožnati sloj.

Povećanje količine vode u rožnatom sloju se može postići oslobađanjem vode iz podloge pripravka ili okluzijom koja blokira transepidermalni gubitak vode. Podloge sadrže različite lipofilne i hidrofilne emolijense koji hidratiziraju i omekšavaju kožu čime otklanjaju različite fiziološke nedostatke zdrave kože i pomažu u rješavanju problema kožnih oboljenja. Lipofilni emolijensi povećavaju hidrataciju rožnatog sloja kože zbog okluzije njene površine a hidrofilni emolijensi obogaćuju površinu kože humektansima koji omogućavaju zadržavanje vode u rožnatom sloju. Voda sadržana u podlozi apsorbira se u slojeve kože i uzrokuje trenutnu hidrataciju no takav učinak je kratkotrajan jer najveći dio brzo isparava s površine kože.

Kod bolesti kože dolazi do oštećenja barijerne funkcije kože. Napredak bolesti i inherentna biološka varijabilnosti se teško određuju što uzrokuje otežano predviđanje dermalne apsorpcije lijeka te samim time i do otežanog predviđanja ishoda liječenja.

S ciljem postizanja što boljeg ishoda liječenja potrebno je uskladiti podlogu s tipom i oštećenjem kože. Za dermatoze koje vlaže primjenjuju se hidratantne podloge dok se na suhe dermatoze

primjenjuju podloge okluzivnog učinka. Djelatna tvar se bira prema vrsti oboljenja a podloga prema stadiju bolesti.

Kombinacija djelatnih i pomoćnih tvari u dermalnom pripravku važna je za fizičko-kemijsku stabilnost te kozmetička svojstva pripravka. Ako pripravak nije primjereno oblikovan, sastavnice pripravka mogu stupati u neželjene interakcije što može razviti neadekvatan izgled i miris pripravka te izazvati nuspojave.

Osobine pripravka i jednostavnost primjene važni su zahtjevi pri oblikovanju pripravka. Ljepljivi i viskozni oblici manje su privlačni bolesnicima u odnosu na oblike koji se lako razmazuju i brzo apsorbiraju. Neprimjerena svojstva oblika često rezultiraju nesuradljivošću bolesnika i lošim pridržavanjem uputa o liječenju.

5. ZAKLJUČAK

Zbog širine primjene dermalnih pripravaka u dermatologiji njihov razvoj predstavlja izazov za farmaceutske industriju.

Koža dužuje svoju zaštitnu funkciju primarno rožnom sloju. Jedinstvena kompozicija lipida i njihova organizacija unutar rožnog sloja čine ključnu ulogu u permeabilnosti kože koja je bitna za permeaciju lijeka kroz kožu.

Funkcionalna barijera rožnog sloja osnova je zdravlja kože što znači da treba biti održana ravnoteža funkcionalnih lipida, vode i prirodnih čimbenika vlažnosti. Kako bi se to postiglo dermalni pripravak treba sadržavati harmonizirane udjele vode, emolijensa i ovlaživača ovisno o tipu i stanju kože.

S fizičko-kemijskog gledišta, formulacije koje dostavljaju lijek pasivnom difuzijom moraju omogućiti razdjeljenje lijeka između formulacije i kože te između slojeva kože. Na taj način postiže se koncentracijski gradijent kroz slojeve kože koji bi trebao biti konstantan.

Podloga dermalnog pripravka značajno utječe na topljivost i termodinamičku aktivnost djelatne tvari, a što u konačnici određuje raspodjelu djelatne tvari iz podloge u rožni sloj kože. Dermalni pripravak treba biti oblikovan na način da je koncentracija djelatne tvari u pripravku približno jednaka njezinoj maksimalnoj topljivosti, dok istodobno topljivost djelatne tvari u podlozi treba biti znatno manja u usporedbi s topljivošću djelatne tvari u rožnom sloju kože. Na topljivost djelatne tvari u podlozi može se utjecati sastavom podloge.

Kako bi se smanjila barijerna funkcija kože koriste se pojačivači prijenosa aktivne tvari koji pojačavaju permeabilnost kože.

Velike mogućnosti interakcija između sastavnica pripravka upućuju na to da je vrlo teško napraviti univerzalnu formulaciju koja bi imala optimiziranu dostavu različitih djelatnih tvari.

Dakle, razvoj optimizirane dermalne podloge bi se trebao razmotriti za svaku djelatnu tvar pojedinačno. Štoviše, formulator treba uzeti u obzir da će se sastav i svojstva vehikla promijeniti nakon nanošenja na kožu. Na primjer, hlapljive komponente formulacije kao što su voda, propilenglikol mogu ispariti, neki sastojci formulacije mogu prodrijeti u kožu ili se komponente kože mogu ekstrahirati u podlogu. Stoga na dostavu djelatne tvari u kožu utječe kontinuirana promjena ravnoteže između djelatne tvari, podloge i kože.

Tip i stanje kože također značajno utječu na djelotvornost dermalnog pripravka. Primjerice, povećanjem debljine kože smanjuje se brzina prijenosa djelatnih tvari. Nadalje, na dijelovima kože s većom gustoćom dlačnih folikula moguće se povećava obim prijenosa djelatnih tvari. Također, fizičke značajke kože utječu na smanjenje obima prijenosa (npr. ožiljkasto tkivo), dok oštećenja barijere kože povećavaju obim prijenosa djelatnih tvari tvari. Istodobno, biokemijske značajke (lipidna kompozicija rožnatog sloja, obim hidratacije) te dob (npr. usporavanje deskvamacije rožnatog sloja s kronološkom dobi), spol (npr. koža muškaraca je veća barijera prijenosu djelatnih tvari u odnosu na kožu žena) i različita oboljenja (npr. atopijski dermatitis, psorijaza, ekcemi) kože mogu u velikoj mjeri mijenjati obim prijenosa djelatne tvari i njezinu djelotvornost.

Pravilna primjena dermalnog pripravka (primjerice, količina pripravka i debljina premaza u ovisnosti o površini kože, ravnomjernost premaza te učestalost primejne također utječe na njegovu djelotvornost.

6. LITERATURA

Adjei A, Newburger J, Stavchansky S, Martin A. Membrane solubility parameter and *in situ* release of theophylline. *J Pharm Sci* 1984;73:742-745.

Alexander A, Ajazuddin DS, Giri TK, Saraf S, Tripathi DK. Approaches for breaking the barriers of drug permeation through transdermal drug delivery. *J Control Release* 2012;164:26-40.

Alvarado HL, Abrego G, Souto EB, Garduno-Ramirez ML, Clares B, Garcia ML, Calpena AC, Nanoemulsions for dermal controlled release of oleanolic and ursolic acids: *In vitro*, *ex vivo* and *in vivo* characterization. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2015;130:40-47.

Argenta DF, de Mattos CB, Misturini FD, Koester LS, Bassani VL, Simoes CM, Teixeira HF. Factorial design applied to the optimization of lipid composition of topical antiherpetic nanoemulsions containing isoflavone genistein. *Int J Nanomedicine* 2014;9:4737-4747.

Banga A, Bose S, Ghosh T. Iontophoresis and electroporation: comparison and contrasts. *Int J Pharm* 1999;179:1-19.

Barel AO, Paye M, Maibach HI. ur. Handbook of Cosmetic Science and Technology 3th ed. Informa Healthcare; 2009.

Benson HA. Transdermal drug delivery: penetration enhancement techniques. *Curr Drug Deliv* 2005;2:23-33.

Bjorklund S, Engblom J, Thuresson K, Sparr E. Glycerol and urea can be used to increase skin permeability in reduced hydration conditions. *Eur J Pharm Sci* 2013;50:638-645.

Brown MB, Martin GP, Jones SA, Akomeah FK. Dermal and Transdermal Drug Delivery Systems: Current and Future Prospects. *Drug Delivery* 2006;13:175-187.

Brown MB, Turner R, Lim ST. Topical product formulation development. U: Benson HAE, Watkinson AC. Ur. Transdermal and Topical Drug Delivery Principles and Practice. John Wiley & Sons, Inc., 2012, str. 255-286.

Cai X, Grant D, Wiedmann T. Analysis of the solubilization of steroids by bile salt micelles. *J Pharm Sci* 1997;86:372-7

Cevc G, Blume G. Hydrocortisone and dexamethasone in very deformable drug carriers have increased biological potency, prolonged effect, and reduced therapeutic dosage. *Biochim Biophys Acta* 2004;1663:61-73

Cooper, E.R. Increased skin permeability for lipophilic molecules. *J Pharm Sci* 1984;73:1153-1156.

Čajkovac M, Kozmetologija, 2. izdanje. Naklada Slap; 2005.

Daniels R, Knie U. Galenics of dermal products – vehicles, properties and drug release. *J Dtsch Dermatol Ges* 2007;5:367-383.

Davis AF, Hadgraft J. Effect of supersaturation on membrane transport: 1. Hydrocortisone acetate. *Int J Pharm* 1991;76:1-8.

Dias M, Hadgraft J, Lane ME. Influence of membrane – solvent – solute interactions on solute permeation in skin. *Int J Pharm* 2007;340:65-70.

Dubey V, Mishra D, Dutta T, Nahar M, Saraf DK, Jain NK. Dermal and transdermal delivery of an anti-psoriatic agent via ethanolic liposomes. *J Control Rel* 2007;123:148-154.

Duganić F, Juretić M, Pepić I. Ljekovite pjene. *Farm Glas* 2014;70:721-745.

European Pharmacopoeia, 9th Edition, Council of Europe, Strasbourg, 2017 monografija 04/2010:0132, Semi-solid preparations for cutaneous application.

Fini A, Bergamante V, Ceschel G. Control of transdermal permeation of hydrocortisone acetate from hydrophilic and lipophilic formulations. *Pharm Sci Tech* 2008;9:762-768.

Flynn GL, Smith EW. Membrane diffusion. III. Influence of solvent composition and permeant solubility on membrane transport. *J Pharm Sci* 1972;61:61-66.

Goreta R, Pepić I. Funkcionalne podloge i pripravci za dermalnu primjenu. *Farm Glas* 2014;70:551-576.

Gosenca M, Bester-Rogac M, Gasperlin M. Lecithin based lamellar liquid crystals as a physiologically acceptable dermal delivery system for ascorbyl palmitate. *Eur J Pharm Sci* 2013;50:114-122.

Gurny R, Teuber A, Eds. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart, Germany, 1993.

Guy RH, Hadgraft J. Structure-activity correlations in percutaneous absorption. In *Percutaneous Absorption: Mechanisms-Methodology-Drug Delivery*; Bronaugh RL, Maibach HI, 2004.

Guy RH. Transdermal science and technology - an update. *Drug Delivery System* 2007;22:442-449.

Hadgraft J, Hadgraft JW, Sarkany I. Effect of thermodynamic activity on the percutaneous absorption of methyl nicotinate from water glycerol mixtures. *J Pharm Pharmacol* 1973;25:122P–123P.

Hadgraft J, Wolff M. Physicochemical and pharmacokinetic parameters affecting percutaneous absorption. In *Dermal and Transdermal Drug Delivery: New Insights and Perspectives, Proceedings of the 2nd International Symposium of the International Association for Pharmaceutical Technology*, Frankfurt, Germany, 11-13 November 1991.

Hadgraft J. Skin deep. *Eur J Pharm Biopharm* 2004;58:291-299.

Higuchi T. Physical chemical analysis of percutaneous absorption process from creams and ointments. *J Soc Cosmet Chem* 1960;11:85-97.

Hoppel M, Juric S, Ettl H, Valenta C. Effect of monoacyl phosphatidylcholine content on the formation of microemulsions and the dermal delivery of flufenamic acid. *Int J Pharm* 2015;479:70-76.

Hrvatska farmakopeja 2007. Zagreb, Hrvatsko farmaceutsko društvo, 2007.

Ibrahim S, Li S. Chemical enhancer solubility in human *stratum corneum* lipids and enhancer mechanism of action on *stratum corneum* lipid domain. *Int J Pharm* 2010;383:89-98.

Kaestli LZ, Wasilewski-Rasca AF, Bonnabry P, Vogt-Ferrier F. Use of transdermal drug formulations in the elderly. *Drug Aging* 2008;25:269-280.

Karadzovska D, Brooks JD, Monteiro-Riviere NA, Riviere JE. Predicting skin permeability from complex vehicles. *Adv Drug Deliv Rev* 2013;65:265-277.

Katz M, Poulsen B. Corticoid, Vehicle, and skin interaction in percutaneous absorption. *J Soc Cosmet Chem* 1972;23:565-590.

Kiptoo PK, Paudel KS, Hammell DC. Transdermal delivery of bupropion and its active metabolite, hydroxybupropion: a prodrug strategy as an alternative approach. *J Pharm Sci* 2009;98:583-594.

Küchler S, Radowski MR, Blaschke T, Dathe M, Plendl J, Haag R, Schäfer- Korting M, Kramer KD. Nanoparticles for skin penetration enhancement – A comparison of a dendritic core-multishell-nanotransporter and solid lipid nanoparticles. *Eur J Pharm Biopharm* 2009;71:243-250.

Kushnir M, Yaar A, Reichman A, Heldman E. Transdermal delivery of a levodopa prodrug; a pilot clinical trial. *Mov Disord* 2008;23:592.

Lane ME. Skin penetration enhancers. *Int J Pharm* 2013;447:12-21.

Lboutounne H, Faivre V, Falsen F, Pirot F. Characterization of transport of chlorhexidine loaded nanocapsules through hairless and wistar rat skin. *Skin Pharmacol Physiol* 2004;17:82-176.

Lipp R. Status Quo - Challenges and Opportunities of Transdermal Drug Delivery. *American Pharmaceutical Review* 2014;17:1-7.

Manca ML, Matricardi P, Cencetti C, Peris JE, Melis V, Carbone C, Escribano E, Zaru M, Fadda AM, Manconi M. Combination of argan oil and phospholipids for the development of an effective liposome-like formulation able to improve skin hydration and allantoin dermal delivery. *Int J Pharm* 2016;505:204-211.

Marcel Dekker: New York, NY, USA, 1989; pp. 95–109.

Matas M. Poremećaj epidermalne barijere i *acne vulgaris*. Specijalistički rad, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2017.

Menon GK, Cleary GW, Lane ME. The structure and the function of the *stratum corneum*. *Int J Pharm* 2012;435:3-9.

Mescher AI :Junqueira's Basic Histology:Text and Atlas, 12 th Edition:
www.accessmedicine.com [pristupljeno 19. 01. 2019]

Montenegro L, Lai F, Offerta A, Sarpietro MG, Micicche L, Maccioni AM, Valenti D, Fadda AM. From nanoemulsions to nanostructured lipid carriers: A relevant development in dermal delivery of drugs and cosmetics. *J Drug Deliv Sci Tec* 2016;32:100-112.

Moser K, Kriwet K, Froehlich C, Kalia YN, Guy RH. Supersaturation: enhancement of skin penetration and permeation of a lipophilic drug. *Pharm Res* 2001;18:1006-1011.

N'Da DD. Prodrug Strategies for Enhancing the Percutaneous Absorption of Drugs. *Molecules* 2014;19:20780-20807.

Naik A, Kalia YN, Guy RH. Transdermal drug delivery: overcoming the skin's barrier function. *Pharm Sci Technol Today* 2000;3:318-326.

Nasir A. Nanodermatology. A bright glimpse just beyond the horizon part I. *Skin Therapy Lett* 2010;15,1-4.

Neubert RHH. Potentials of new nanocarriers for dermal and transdermal drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm* 2011;77:1-2.

Ng KW, Lau WM. Skin Deep: The Basics of Human Skin Structure and Drug Penetration. In Dragicevic N, Maibach HI (eds) Percutaneous Penetration Enhancers Chemical Methods in Penetration Enhancement: Drug Manipulation Strategies and Vehicle Effects. Springer, Berlin, Heidelberg, 2013. pp 3-11.

Otto A, du Plessis J, Wiechers JW. Formulation effects of topical emulsions on transdermal and dermal delivery. *Int J Cosmet Sci* 2009;31:1-19.

Pepić I, Vujičić M, Lovrić J, Filipović-Grčić J. Nanočestice u dermatokozmetičkim pripravcima: liposomi, mikroemulzije i polimerne micle. *Farm Glas* 2012;68:763-772.

Pepić I. Struktura i funkcija kožne barijere, Predavanje, Zavod za farmaceutsku tehnologiju, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2017.

Perrie, Y, Badhan RK, Kirby DJ, Lowry D, Mohammed AR, Ouyang D. The impact of ageing on the barriers to drug delivery. *J Control Release* 2012;161:389-398.

Qandil A, Al-Nabulsi S, Al-Taani B, Tashtoush B. Synthesis of piperazinyllalkyl ester prodrugs of ketorolac and their in vitro evaluation for transdermal delivery. *Drug Dev Ind Pharm* 2008;34:1054-1063.

Raghavan SL, Trividic A, Davis AF, Hadgraft J. Effect of cellulose polymers on supersaturation and in vitro membrane transport of hydrocortisone acetate. *Int J Pharm* 2000;193:231-237.

Raposo SC, Simoes SD, Almeida AJ, Ribeiro HM. Advanced systems for glucocorticoids' dermal delivery. *Expert Opin Drug Deliv* 2013;10:857-877.

Rawlings AV, Matts PS, Anderson CD, Roberts MS. Skin biology, xerosis, barrier repair and measurement. *Drug Discov Today: Disease Mech* 2008;5:127-136.

Rehman K, Zulfakar MH. Recent advances in gel technologies for topical and transdermal drug delivery. *Drug Dev Ind Pharm* 2014;40:433-440.

Senyig T, Tekmen I, Szonmez U. Deoxycholate hydrogels of betamethasone-17-valerate intended for topical use: in vitro and in vivo evaluation. *Int J Pharm* 2011;403:123-129.

Senjković R. Osnove oblikovanja lijekova, Zagreb, Školska knjiga, 2003.

Sloan KB, Koch SAM, Siver KG, Flowers FP. Use of solubility parameters of drug and vehicle to predict flux through skin. *J Invest Dermatol* 1986;87:244-252.

Strasinger CL, Scheff NN, Stinchcomb AL. Prodrugs and codrugs as strategies for improving percutaneous absorption. *Expert Rev Dermatol* 2008;3:221-233.

Tenjarla N, Puranajoti S, Kasina P, Tarun RM. Terbutaline Transdermal Delivery: Preformulation studies and limitations of in vitro predictive parameters. *J Pharm Pharmacol* 1996;48:1138-1142.

Thomas JD, Majumdar S, Sloan KB. Soft alkyl ether prodrugs of a model phenolic drug: the effect of incorporation of ethyleneoxy groups on transdermal delivery. *Molecules* 2009;14:4231-4245.

Tokić M. Transdermalni flasteri 2015. Diplomski rad, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu.

Twist JN, Zatz JL. Influence of solvents on paraben permeation through idealized skin model membranes. *J Soc Cosmet Chem* 1986;37:429-444.

Uchechi O, Ogbonna JDD, Attama AA. Nanoparticles for Dermal and Transdermal Drug Delivery 2014.

Uputa o lijeku Plimycol 10 mg/g krema Pliva Hrvatska d.o.o. 2011.

Upute o lijeku EMLA krema https://www.ema.europa.eu/documents/referral/emla-cream-article-30-referral-annex-iii_hr.pdf

Vaddi HK, Banks SL, Chen J, Hammell DC, Crooks PA, Stinchcomb AL. Human skin permeation of 3-O-alkyl carbamate prodrugs of naltrexone. *J Pharm Sci* 2009;98:2611-2625.

Vidlarova L, Romero GB, Hanus J, Stepanek F, Muller RH. Nanocrystals for dermal penetration enhancement - Effect of concentration and underlying mechanisms using curcumin as model. *Eur J Pharm Biopharm* 2016;104:216-225.

Vogt A, Wischke C, Neffe AT, Ma N, Alexiev U, Lendlein A. Nanocarriers for drug delivery into and through the skin - Do existing technologies match clinical challenges? *J Control Release* 2016;242:3-15.

Wiedersberg S, Leopold CS, Guy RH. Bioavailability and bioequivalence of topical glucocorticoids. *Eur J Pharm Biopharm* 2008;68:453-466.

Williams AC. Transdermal and Topical Drug Delivery: From Theory to Clinical Practice; Pharmaceutical Press: London, UK, 2003; pp. 1-242.

Wissing SA, Müller RH, Manthel L, Mayer C. Structural characterization of Q10-loaded solid lipid nanoparticles by NMR spectroscopy. *Pharm Res* 2004;21:400-405.

Wolff HM. Future of Transdermal Drug Delivery systems (TDDS) 2014,
<http://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/163672-Future-ofTransdermal-Drug-Delivery-Systems-TDDS> [pristupljeno 19. 01. 2019.]

Zhang L, Pornpattananangkul D, Hu CMJ, Huang CM. Development of nanoparticles for antimicrobial drug delivery. *Curr Med Chem* 2010;17:494-585.